UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

QUALIDADE DA ÁGUA E HISTOPATOLOGIA DE ÓRGÃOS DE PEIXES PROVENIENTES DE CRIATÓRIOS DO MUNICÍPIO DE ITAPECURU MIRIM, MARANHÃO.

Debora Martins Silva Santos
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

QUALIDADE DA ÁGUA E HISTOPATOLOGIA DE ÓRGÃOS DE PEIXES PROVENIENTES DE CRIATÓRIOS DO MUNICÍPIO DE ITAPECURU MIRIM, MARANHÃO.

Debora Martins Silva Santos

Orientador: Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010

Santos, Debora Martins Silva
S237q Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão / Debora Martins Silva Santos. – – Jaboticabal, 2010
iv, 83 f. : il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Flavio Ruas de Moraes
Banca examinadora: Marco Antonio de Andrade Belo, Ana Lúcia Abreu-Silva, Fabiana Pilarski, Luiz Augusto do Amaral
Bibliografia

1. Água. 2. Coliformes. 3. Alterações teciduais. 4. Tilápia. 5. Tambacu. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619 : 616-091.8 : 639. 31

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DEBORA MARTINS SILVA SANTOS – filha de José Ribamar Serra Silva e Rosimar de Maria Martins Silva, nascida em 10 de dezembro de 1970 no município de São Luís, MA, formou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), em 1995. Ingressou em 1996, no Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Câmpus de Jaboticabal-UNESP, concluindo-o em 1998, defendendo a dissertação "Pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas utilizando diferentes meios de cultivo para o isolamento e avaliação de sensibilidade a agentes antimicrobianos", sob orientação do Prof. Dr. Angelo Berchieri Júnior. Cursou o doutorado em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal (UNESP), através do Doutorado Interinstitucional (DINTER), entre a UNESP-Jaboticabal e a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Iniciou suas atividades docentes no Departamento de Química e Biologia do curso de Ciências Biológicas da UEMA em 2004, onde atualmente é professora assistente e ministra as disciplinas Biologia celular e Histologia e Embriologia comparada.

"E Deus criou os peixes... E viu Deus que era bom!"

(Gn 1.21)

Dedico

Ao meu esposo Joel Santos pelo amor, carinho, dedicação e compreensão sempre presente mesmo diante da distância que nos separou...Te amo

Às minhas filhas Lorenza e Tirzah por terem entendido que esse período seria de sacrifícios. Amo vocês!

Aos meus avós Luiza e José (in memorian) pelo exemplo de vida e dedicação na minha formação.

Aos meus pais Ribamar e Rosimar pela confiança que sempre depositaram em mim.

Ao meu irmão Zeca e irmãs Jakeline, Andréa, Abigail e Milka com muito amor.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, ser supremo que sempre guiou a minha vida e concedeu-me grandes vitórias.

À minha mãe, **Rosimar de Maria Martins Silva**, por ter deixado suas atividades em São Luís-MA e ter me ajudado com suas netinhas nos momentos de luta durante a realização deste trabalho. Deus lhe recompensará!

Ao Prof. Dr. **Flávio Ruas de Moraes**, pela competência, segurança e pela tranquilidade que sempre demonstrou como orientador.

À Profa. Dra. **Francisca Neide Costa**, pela implantação do DINTER entre a UNESP e a UEMA e por sua incansável luta à frente da coordenação.

À Profa. Dra. **Rosângela Zacarias Machado**, pela colaboração em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. **César Roberto Esper**, por se deslocar da sua cidade e realizar a avaliação dos professores que participariam do programa. Professor o senhor acreditou que o programa teria sucesso. Obrigada!

Ao Prof. Dr. **Euclides Braga Malheiros** pela colaboração na análise estatística.

À Profa. **Lúcia Maria Coêlho Alves**, companheira de viagem durante a etapa de colheita das amostras e por sua colaboração durante as avaliações microbiológicas no Laboratório de Microbiologia de Água e Alimentos da Universidade Estadual do Maranhão.

Ao aluno de graduação em Ciências Biológicas, **Cristiano Ferreira Cruz**, por sua dedicação e colaboração durante a etapa experimental desse trabalho, tanto no campo quanto no laboratório. Você foi um braço forte e acima de tudo um grande amigo!

À aluna de graduação, **Dayane Pestana Pereira**, por ter me acompanhado e ajudado durante o experimento.

A minha sogra **Júlia Santos** e meu sogro **Joaquim Oliveira**, cunhados e cunhadas pelas orações e apoio durante esse período de luta.

Ás médicas veterinárias da AGED-Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão**, Antonieta e Jeane Oliveira,** que abriram caminho para que obtivéssemos as nossas amostras junto aos piscicultores do município.

Aos funcionários do Laboratório de Diagnóstico em Patologia do Departamento de Patologia do Departamento de Patologia Veterinária da UNESP, **Maria Inês Yamazaki de Campos e Francisca de Assis Ardisson**, pelo auxílio nos cortes e coloração de amostras.

Aos professores, **Fabiana Pilarski, João Batista Fernandes Kochenborger, Laura Satiko Okada e Tereza Cristina Ribeiro Dias Koberstein,** pelas considerações pertinentes para melhorar o nosso trabalho durante o exame geral de qualificação.

Aos professores, **Marco Antonio de Andrade Belo, Ana Lúcia Abreu Silva, Fabiana Pilarski e Luiz Augusto do Amaral** que avaliaram o nosso trabalho durante a defesa da tese. As sugestões foram acatadas para melhor o nosso trabalho.

Aos meus colegas de turma do DINTER, **Antonia Santos Oliveira, Daniel Praseres Chaves, Lúcia Maria Coêlho Alves, José Ribamar da Silva Júnior, Evaldo Monteiro,José Gomes Pereira, Maria Cristiane Pestana Miranda, Maria do Socorro Braga, Rejeana Lima, Washington Ferreira Conceição e José Ribamar Privado Filho** pelo convívio e solidariedade durante o decorrer do curso.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, especialmente **Mabel** e **Neli** pela amizade e carinho.

À bibliotecária, **Tiéko Takamiya Sugahara**, pela correção das referências.

À **UEMA** e aos professores e funcionários do Departamento de Química e Biologia que concordaram com o meu afastamento para desenvolver mais uma etapa importante da minha vida.

Ao casal amigo **Roberto e Liziane** por serem pessoas solidárias nos momentos que precisei quando estava no maior sufoco para escrever esse trabalho. Também aos seus filhos **Mariana (Mari) e Fernando (Fe)** que proporcionaram momentos de muitas brincadeiras juntamente com as minhas filhas. Essa família está em nossos corações e que Deus abençoe vocês continuamente.

A Dona **Terezinha** pelo cuidado com minhas filhas em levar para passear na pracinha juntamente com a **Mariana** e o **Fernando** para que eu pudesse escrever a qualificação.

A Dona **Zoé, Natalina e Adriano** pela preocupação e cuidado que sempre tiveram em me ajudar nos momentos que mais precisei.

À **CAPES**, Coodenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro.

A todos obrigada!

SUMÁRIO

Página

RESUMO iii
SUMMARY iv
1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO DA LITERATURA 3
2.1 Poluição 3
2.2 Bactérias do grupo coliformes 5
2.3 Bacterioses em peixes 7
2.4 Alterações em brânquias 10
2.5 Alterações em fígado 14
2.6 Alterações em rim 16
3. OBJETIVOS 18
4. MATERIAL E MÉTODOS 19
4.1 Caracterização da área de estudo 19
4.2 Locais de colheita 22
4.3 Animais 24
4.4 Avaliação histopatológica 26
4.5 Avaliação microbiológica 26
4.5.1 Brânquias 26
4.5.2 Água das pisciculturas 27
4.6 Avaliação físico-química da água 28
4.7 Análise estatística 29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 30
5.1 Qualidade microbiológica da água das pisciculturas 30
5.2 Qualidade físico-química da água das pisciculturas 32
5.3 Microbiologia das brânquias 34
5.4 Histopatologia 43
5.4.1 Brânquias 43
5.4.2 Fígado 50

5.4.3 Rim 59
6. CONCLUSÕES 69
7. REFERÊNCIAS 70

QUALIDADE DA ÁGUA E HISTOPATOLOGIA DE ÓRGÃOS DE PEIXES PROVENIENTES DE CRIATÓRIOS DO MUNICÍPIO DE ITAPECURU MIRIM, MARANHÃO

RESUMO – O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade da água e as alterações patológicas em brânquias, fígado e rim de peixes. Utilizou-se 57 exemplares, sendo 32 tilápias e 25 tambacus de seis pisciculturas do município de Itapecuru Mirim, MA. Para avaliação microbiológica da água, realizou-se o método “colilert” que analisa simultaneamente coliformes totais e *Escherichia coli* e o “simplate” para bactérias heterotróficas. Já para as brânquias o método foi o de enxaguadura, onde o líquido recolhido foi semeado em PCA e após incubação as colônias contadas e realizou-se a coloração de Gram para caracterização da microbiota. Os fragmentos dos órgãos foram incluídos em parafina para análise histopatológica. A água das pisciculturas apontou a presença de coliformes totais, *E. coli* e bactérias heterotróficas, turbidez elevada, pH reduzido e os valores de fosfato aumentados. Nas branquiais houve predomínio de cocos Gram-positivos. As alterações identificadas nas brânquias foram fusão lamelar, hiperplasia interlamelar, edema sub-epitelial e telangiectasia. No fígado havia congestão, hemorragia, necrose de hepatócitos e tecido pancreático, esteatose, inflamação do hepatopâncreas, bilirrubina intracitoplasmática nos hepatócitos, melanina e hemossiderina e hialinização. No rim notou-se esteatose, necrose coagulativa, edema intersticial, hemorragia focal e intersticial, nefrite, néfron imaturo, hialinização e melanomacrófagos com hemossiderina e melanina. As alterações teciduais podem estar associadas à ação de poluentes e de agentes biológicos presentes no ambiente aquático.

Palavras-chave: água, coliformes, alterações teciduais, tilápia, tambacu

WATER QUALITY AND FISHES ORGANS HISTOPATOLOGY ORIGINATED FROM ITAPECURU MIRIM, MARANHÃO FISH FARM POUNDS

SUMMARY – The aim of this paper was to evaluate the water microbiologic quality and pathological in gills, liver, and kidney of fishes which were collected from different pounds to microbiological and histological evaluations. It was used 57 fishes: 32 tilapia and 25 tambacu from six fish farms from Itapecuru Mirim, MA. For evaluation of total coliforms and *Escherichia coli*, the “colilert” method was used .and the simplate” method was use for heterotrophic bacteria. The gills were washed and the collected liquid was pipetted out in PCA plate. The colonies were characterized by smears stained by Gram method. The fragments of gills, liver and kidney were processed for paraffin imbedded. The results showed that the water from part of the fish farms presented presence of total coliform, *E. coli*, and heterotrophic bacteria. Other other hand the turbidity was high, the pH was low and the phosphate values were elevated in part of the fish farms. The microbiological of gills showed a predominance of Gram-positive coccus. The main alterations in gills were lamellar fusion, interlamelar hyperplasia, sub-epithelial edema and telangiectasy. In the liver there was congestion, hemorrhage, hepatocyte and pancreatic tissue necrosis, steatose, hepatopancreas inflammation, intra-cytoplasmatic bilirubin in the hepatocyte, melanin and hemossiderin and hyalinization. In the kidney was observed steatose, coagulate necrosis, interstitial edema, focal and interstitial hemorrhage, nephritis, immature nephron, hyalinization and melanomacrophages with hemossiderin and melanin. The tissue alterations can be associated to the pollutant and biologic agent action present in the aquatic environment.

Keywords: water, coliforms, tissue changes, tilapia, tambacu

1. INTRODUÇÃO

No Maranhão, a pesca marinha desenvolve-se em grande escala, mas em águas interiores e criação em cativeiro a produção é considerada baixa. A pesca em águas interiores atende somente às comunidades ribeirinhas, enquanto que as pisciculturas atendem as classes sociais de maior poder aquisitivo. O processo de criação de peixes de água doce, até o momento, ainda está em fase de estudos. Os criadores procuram dinâmicas diferenciadas, como por exemplo, adaptação de espécies ao meio (PAIXÃO-FILHO, 2003).

Sabe-se que os corpos d'água são habitados por ampla variedade de seres vivos, entre os quais se incluem microrganismos como as bactérias que se nutrem de matéria orgânica. Além dos microrganismos próprios do ambiente aquático, os rios recebem toda microbiota bacteriana contida nas descargas de esgotos que prejudicam a microbiota original e representam risco para a saúde pública, especialmente quando a população utiliza diariamente essa água sem tratamento (SERAFIM et al. 2003).

Quando a água dos viveiros é de má qualidade microbiológica pode interferir na qualidade microbiológica do peixe e de seus subprodutos e a presença de coliformes aponta a possibilidade de poluição fecal de origem humana ou de animais homeotérmicos (LORENZON, 2009).

Para HUSS (1988), a microbiota do pescado de água doce é significantemente diferente da microbiota de peixes marinhos em termos populacionais. No primeiro caso, a população de bactérias Gram-positivas como *Streptococcus*, *Micrococcus* e *Bacillus* é maior, havendo também maior população do gênero *Aeromonas*. Os bastonetes Gram negativos psicrotróficos encontrados no pescado marinho também são dominantes na microbiota de água doce.

Outro ponto a se considerar é que os peixes são sensíveis aos poluentes aquáticos podendo causar alterações morfológicas em diferentes tecidos, em particular nas brânquias, fígado e rim. As brânquias exercem funções vitais na respiração, osmorregulação e excreção, podendo oferecer subsídios a estudos de impacto ambiental, por se tratar de órgão em contato direto com a água. Assim, as

consequências diretas da ação de poluentes podem desencadear processos degenerativos e necróticos, transtornos de crescimento celular como hiperplasia e hipertrofia celulares, além de distúrbios circulatórios (HIBIYA, 1982).

O fígado órgão de intensa atividade metabólica, recebe por via sanguínea os poluentes absorvidos do ambiente podendo de acordo com o tipo de substância química, tempo de contato e concentração sofrer alterações em sua morfologia (SALEH, 1982; BRAUNBECK et al. 1990).

Em rim de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) já foram observadas alterações teciduais como nefrodistrofias, congestão de sinusóides glomerulares e hialinizações devido à exposição a poluentes aquáticos (CAMPOS et al. 2008).

As doenças infecciosas em peixes são mais severas em ambientes onde são lançados resíduos orgânicos, pois estes tendem a favorecer a proliferação de bactérias com potencial patogênico, por aumentar a tensão ambiental de infecção, causando surtos infecciosos com impacto econômico apreciável nas criações (MORAES & MORAES, 2009).

No Maranhão, a oferta de alevinos é considerada precária, de alto custo e não atende ao controle sanitário e profilático, deixando toda a bacia susceptível a contaminação por parasitos e bactérias que podem causar danos aos peixes desse ambiente aquático (BARROSO & SOUSA, 2007). Dessa forma, o estudo da qualidade da água torna-se necessário para garantir a sobrevivência dos peixes e as alterações teciduais podem contribuir no auxílio ao diagnóstico de processos tóxicos por produtos químicos e no monitoramento dos efeitos agudos e crônicos em ambientes aquáticos poluídos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Poluição

A gestão dos recursos hídricos no Brasil vem sendo amplamente discutido devido à degradação qualitativa e quantitativa, a discussão girava em torno dos elementos relacionados à produção de energia do país, particularmente ao armazenamento e à contenção de cheias por meio de barragens. Atualmente, a preocupação também é com o controle dos resíduos industriais e domésticos que são lançados "*in natura*" nos cursos d'água (BRASIL, 2002).

As águas naturais de lagos, lagoas, rios e oceanos podem servir de hábitat para vários microrganismos, cujos tipos serão determinados pelas condições que prevalecem nesse ambiente. Entre essas condições destacam-se a temperatura, luz, salinidade, turbidez, pH e nutrientes (PELCZAR et al. 1996).

A má qualidade da água resulta em prejuízo do crescimento, reprodução, saúde, sobrevivência e qualidade da carne dos peixes, comprometendo o sucesso dos sistemas aquícolas, por induzir alterações na homeostase ou mesmo enfermidades com alta taxa de mortalidade. O estresse decorrente torna o peixe susceptível às enfermidades variadas, particularmente as infecciosas e parasitárias (WALTERS & PLUMB, 1980; BERNET et al. 1999).

Técnicas de avaliação do impacto ambiental demonstraram que ocorrem alterações estruturais em populações de peixes de áreas próximas de grandes densidades demográficas onde há elevado grau de contaminação por sedimentos (MALINS, 1989).

Os efeitos dos poluentes sobre a estrutura branquial são estudados em ambientes poluídos ou em testes de laboratório, e as alterações histopatológicas encontradas são utilizadas como indicadores da contaminação aquática (WESTER & CANTON, 1991; SCHWAIGER et al. 1997; THOPHON et al. 2003).

Os efeitos dos contaminantes em peixes podem se manifestar em vários níveis de organização biológica, incluindo disfunções fisiológicas, alterações estruturais em órgãos e tecidos e modificações comportamentais que levam ao prejuízo do crescimento e reprodução (ADAMS, 1990).

Devido às ações antropogênicas, tem-se aumentado as oscilações do ambiente aquático, permitindo a liberação indiscriminada de agentes poluidores, o que afeta diretamente os animais que nele convivem (ARAÚJO et al. 2001).

Lesões histológicas, assim como, doenças de peixes com ampla gama de etiologias estão sendo usadas como indicadores sensíveis e confiáveis da saúde e estresse ambiental em populações naturais (BUCKE & FEIST, 1993; MATTHIESSEN et al. 1993; STENTIFORD et al. 2003).

A água dos viveiros, de modo geral, contém gases, íons inorgânicos, substâncias em solução ou partículas em suspensão. Dentre os gases, o oxigênio, o gás carbônico e o nitrogênio são os mais abundantes, mas os não ionizados como a amônia, o hidróxido sulfídrico e o metano podem alcançar concentrações deletérias em determinadas condições, passando a causar problemas de saúde aos peixes (MORAES & MARTINS, 2004).

Na piscicultura intensiva grande parte dos problemas de qualidade da água está relacionada ao uso de alimentos de má qualidade e estratégias de alimentação inadequadas. A adequação de ambos garante a melhor saúde e desempenho produtivo dos peixes. (OLIVEIRA, 2009).

A qualidade da água de um rio ou reservatório está sob constante ameaça da ação degradadora de poluentes. Estes podem originar-se de fontes pontuais ou localizadas, como os esgotos domésticos, efluentes industriais ou, de fontes dispersas, não localizadas, como as águas de escoamento superficial e as águas de infiltração (MACHADO et al. 2009).

Segundo BRASIL (2002) apesar da grande disponibilidade hídrica no Estado do Maranhão, observa-se nos últimos anos problemas ambientais nos corpos d’água das suas principais bacias, oriundos da ocupação antrópica, provocados por uso e manejo inadequado do solo e ausência de práticas agroecológicas.

2.2 Bactérias do grupo coliformes

O grupo dos coliformes inclui bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicas, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas, a 35^0C. Existem no grupo cerca de 20 espécies de bactérias, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal, como diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como a *Serratia* sp. e *Aeromonas* sp. (SILVA et al. 1997).

Os coliformes termotolerantes fermentam a lactose com produção de gás e aldeídos ácidos, em 24 horas a 44,5+/-0,5^{o}C, são indicadores de poluição fecal, pois sua presença evidencia o risco de bactérias patogênicas de origem fecal, como os gêneros *Escherichia, Enterobacter* e *Klebsiella* (SILVA et al. 1997). Na prática, deve-se apontar diretamente a *Escherichia coli* como indicadora mais representativa de contaminação fecal quando se compara aos demais gêneros e espécies (PÁDUA, 2003).

Os coliformes totais e termotolerantes atuam com indicadores de lançamentos orgânicos, sendo expressos em densidade, ou seja, como o número mais provável (NMP) em cada 100mL. O NMP de bactérias coliformes, variável chamada também de colimetria, deve ser entendido como um parâmetro que visa avaliar o potencial de contaminação da água e não o imediato grau de contaminação por patógenos de origem fecal. Esse método baseia-se na determinação empírica da concentração de coliformes totais e termotolerantes em um dado volume de água (PÁDUA, 2003).

Os coliformes termotolerantes habitam os intestinos do ser humano, não se reproduzem no meio hídrico, e por isso sua presença na água indica a presença da matéria fecal. Sendo assim, a presença de coliformes termotolerantes na água indica que ela recebe esgotos e por sua vez, significa a possibilidade da presença de agentes patogênicos (PÁDUA, 2003).

Os coliformes não são habitantes normais da microbiota intestinal de peixes, no entanto, foram isolados do trato gastrintestinal desses animais. Esse fato sugere que a microbiota bacteriana do peixe pode revelar as condições microbiológicas da água (LORENZON, 2009). Como não fazem parte da microbiota do pescado, a presença dos coliformes está sempre associada à contaminação fecal da água do local de captura ou manuseio inadequado do pescado fresco (FRAZIER & WESTHOFF, 1988).

A Resolução CONAMA N° 357 de 17 de março de 2005 estabelece a classificação das águas em classe 2 para águas doces destinadas à proteção de comunidades aquáticas e à criação natural e/ou intensiva de espécies destinadas à alimentação humana. Os coliformes termotolerantes não devem exceder o limite de 1000/100mL em 80% ou mais de pelo menos cinco amostras mensais colhidas em qualquer mês, ou então o índice limite de 5000 coliformes totais/100mL em 80% ou mais de pelo menos cinco amostras mensais colhidas em qualquer mês, quando na região não houver meios disponíveis para exame de coliformes termotolerantes.

Pesquisas de ALMEIDA et al. (2008) avaliaram a qualidade sanitária da água do rio Una, SP, no período das chuvas e observaram que as taxas de coliformes totais oscilaram entre 1000 e ≥ 1600 NMP/100mL, nos meses de dezembro de 2006, janeiro e março de 2007. Esse resultado não se enquadra dentro dos valores permitidos para rio da classe 2 e que houve altos valores de coliformes termotolerantes, evidenciando alta contaminação fecal e LORENZON (2009) que estudou coliformes totais e termotolerantes em tilápias e na água de pesque-pagues situados na microbacia de Córrego Rico, SP observou o número mais provável (NMP) de coliformes totais na pele variando de $1,5 \times 10^3$ a $> 1,1 \times 10^4$ NMP. 100 ml^{-1}, no músculo de $2,0 \times 10$ a $>1,1 \times 10^3$ NMP.g^{-1}, no trato gastrintestinal de $2,6 \times 10^3$ a $> 1,1 \times 10^4$ NMP.g^{-1} e na água variou de $4,2 \times 10^4$ a $2,4 \times 10^5$ NMP.100mL^{-1}, Já para coliformes termotolerantes a água de enxaguadura da pele variou de $< 3,0 \times 10$ a $1,4 \times 10^3$NMP. 100 ml^{-1}, no músculo variou de < 3 a 6 NMP.g^{-1}, no trato gastrintestinal variou de $1,2 \times 10^3$ a $5,1 \times 10^3$ NMP.g^{-1} e na água de cultivo variou de $3,8 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^4$ NMP. 100 ml^{-1}.

2.3 Bacterioses em peixes

As bactérias podem intensificar seu potencial patogênico quando as condições físicas e químicas do ambiente estiverem alteradas (WALTERS & PLUMB, 1980). A maioria desses microrganismos são naturalmente saprófitas e utilizam a matéria orgânica e mineral do ambiente aquático para sua multiplicação. Entretanto, quando surge oportunidade, esses microrganismos são capazes de invadir o ambiente nutricionalmente vantajoso dos tecidos dos peixes e desencadearem doenças (FRERICHS, 1989).

A água, o muco da superfície corporal e particularmente o trato digestório dos peixes albergam ampla microbiota bacteriana, sendo seus reservatórios naturais. Alta densidade de estocagem de peixes ou outras condições que produzem o aumento de amônia favorecem o incremento da população bacteriana na criação. A água, mais que o ar, facilita a disseminação de patógenos. As bactérias saprófitas são responsáveis por infecções secundárias ou oportunistas quando os peixes estão debilitados pelo estresse ou por alguma enfermidade (MORAES & MARTINS, 2004).

O ambiente aquático de má qualidade, rico em matéria orgânica, favorece a proliferação de bactérias e parasitos com potencial patogênico, aumentando a tensão ambiental de infecção. Ao mesmo tempo atua como agente estressor nos peixes provocando a liberação de cortisol e diminuindo a sua resistência aos agentes presentes no meio, privilegiando o surgimento de surtos de doenças (MORAES & MORAES, 2009).

Com o desenvolvimento da piscicultura e da criação intensiva, há aumento da incidência e severidade de doenças bacterianas, assim como a introdução e disseminação de novas enfermidades (AUSTIN & AUSTIN, 1987).

Agentes como *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Flavobacterium columnare, Vibrio anguillarum* e *Edwardsiella tarda* são considerados oportunistas, e fazem parte da microbiota da água, pele, brânquias e intestino dos peixes. Quando há desequilíbrio do sistema bactéria-hospedeiro-ambiente, podem desencadear epizootias (BARJA & ESTEVES, 1988).

As infecções por bactérias do gênero *Aeromonas* são de ocorrência mundial e provavelmente a doença bacteriana mais comum em peixes de água doce (NOGA,1996). O gênero compreende um grupo de microrganismos que têm ampla distribuição em ambientes aquáticos e são adaptadas a multiplicar-se em temperaturas que variam de 5^0C a 37^0C, são bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos e estão presentes na superfície corporal e brânquias dos peixes (KOZINSKA, 2007).

A columnariose é causada pela bactéria *Flavobacterium columnare* e tem distribuição mundial, acometendo a maioria das espécies de água doce. Essa enfermidade causa prejuízos consideráveis à indústria americana de “cattfish”. No Brasil não existem dados sobre seu impacto na produção de peixes, porém surtos da doença são frequentemente observados nas pisciculturas nacionais, principalmente nas larviculturas (ARIAS et al. 2004).

PILARSKI et al. (2008) isolaram cepas da espécie *Flavobacterium columnare* de quatro espécies de peixes tropicais clinicamente diagnosticados como acometidos por columnariose pelo Setor de Sanidade de Peixes do Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA de Pirassununga, SP).

PERERA et al. (1997) baseados no padrão de mortalidade observado em algumas pisciculturas de tilápias no Texas, sugeriram a existência de fonte permanente de estreptococos no meio aquático. Quando as condições são favoráveis, tais como grande quantidade de matéria orgânica, as bactérias presentes na água multiplicam-se e provocam surtos nos peixes. Os surtos de enfermidades em peixes são importantes, devido à capacidade do patógeno em afetar outras espécies que coabitam o ambiente aquático, sendo intensificados entre predadores de peixes doentes ou mortos (ZLOTKIN et al. 1998).

Dentre as enfermidades de etiologia bacteriana em sistemas de criação intensiva de tilápia (*Oreochromis niloticus*), destaca-se a septicemia por *Streptococcus* spp. (SURESH, 1998). Os estreptococos são bactérias oportunistas amplamente distribuídas no ambiente aquático e sua patogenicidade está associada às condições de estresse do hospedeiro, tais como: má qualidade da água, manejo inadequado e condições de criação intensiva (BUNCH & BEJERANO, 1997).

SALVADOR et al. (2005), isolaram e caracterizaram estreptococos em tilápias do Nilo criadas em sistema de tanque-rede e em viveiros de terra. A classificação do isolado demonstrou homologia dos perfis bioquímicos com a cepa referência de *Streptococcus difficile* (ND 2-22), sugerindo sua participação como agente da meningoencefalite em tilápia do Nilo na Região Norte do Estado do Paraná.

Estudos realizados por SHAMA et al. (2000), utilizando jundiás (*Rhamdia quelen*) capturados em tanques da Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria, RS, para identificar gêneros bacterianos em lesão externa e rins, isolaram 13 gêneros bacterianos de 35% dos jundiás necropsiados, sendo 11 descritos como causadores de problemas em peixes como *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp*., Edwardsiella tarda*, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio* sp., *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp. e *Pasteurella sp.* Das bactérias isoladas, 43,40% (23/53) foram isoladas dos rins, 35,85%(19/53) de lesões externas e 18,87% (10/53) de ambas.

Segundo THUNE et al. (1993), as doenças infecciosas de origem bacteriana têm maior significado em criações intensivas. Distúrbios funcionais de peixes, além de influenciar as suas características biológicas e aumentar a suscetibilidade para fatores ambientais desfavoráveis, também prejudicam o mecanismo de defesa, predispondo estes animais à ação deletéria secundária exercida por outros patógenos, tais como: bactérias, fungos e parasitos.

A presença de bactérias de origem fecal como resultado de lançamento de efluentes domésticos sem tratamento prévio pode proliferar no ambiente e provocar lesões cutâneas. Segundo LANGER e al. (2007), a ação de bactérias de caráter antrópico, em especial *Staphylococus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, foram os prováveis agentes causadores de lesões teciduais em tainha (*Mugil platanus*), coletados no rio Tramandaí, Rio Grande do Sul.

NEDOLUHA & WESTHOFF (1993) afirmaram que peixes criados em tanques estão sujeitos à contaminação bacteriana pelo contato com meio ambiente, alimento, pássaros, animais domésticos e com o próprio ser humano. As bactérias encontradas estão presentes principalmente sobre a pele, nas brânquias, no intestino e, às vezes, no fígado, baço, coração e rins.

SOUSA & SILVA-SOUZA (2001) estudaram a comunidade bacteriana de peixes e da água do rio Congonhas, no Paraná, isolando estirpes de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae, *Micrococcus*, *Bacillus* e *Lactobacillus*, com predomínio de *Aeromonas* nos peixes e *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae, *Bacillus* e *Flavobacterium*, predominando *Flavobacterium* e *Acinetobacter* na água do rio.

Em relação à saúde pública deve ser realizada uma minuciosa e constante análise microbiológica tanto da água quanto dos peixes oriundos dos sistemas de produção, tendo em vista a possibilidade de veiculação de patógenos diretamente associados à infecção de origem alimentar.

2.4 Alterações em brânquias

O epitélio branquial é altamente sensível às variações ambientais do meio aquático, atendendo a uma necessidade funcional pela modificação quantitativa e constitutiva de suas células (NOGA, 1996).

Os peixes teleósteos possuem epitélio branquial em íntimo contato com a água, recebendo diversos componentes químicos que nela são dissolvidos, levando a sua modificação morfológica (ROBERTS & BULLOCK, 1980; PERRY & LAURENT, 1993; PAWERT et al. 1998). A multifuncionalidade das brânquias, a vasta área de superfície e a sua localização relativamente no meio externo faz dela um órgão chave para a ação de poluentes do meio aquático. Dessa forma, as alterações histológicas das brânquias são de fácil reconhecimento e válido para determinar os danos causados pela exposição dos peixes a diferentes poluentes (ARELLANO et al. 1999).

Durante o processo respiratório, o fluxo de água que entra pela boca do peixe leva consigo agentes irritantes, dissolvidos ou suspensos na água. Os rastros impedem que agentes sólidos atravessem os filamentos branquiais, causando-lhes danos. Todavia, se os agentes encontrarem-se dissolvidos na água, inevitavelmente entrarão em contato com os filamentos branquiais e com as lamelas respiratórias e, em altas concentrações, poderão alterar a morfologia branquial (LUVIZOTTO,1994).

Os efeitos de poluentes sobre a estrutura branquial são estudados em peixes coletados em ambientes poluídos ou expostos a testes de laboratório, e as alterações histopatológicas encontradas servem como indicadores da contaminação aquática (SCHWAIGER et al.1997).

As causas de lesões em brânquias incluem agentes químicos, físicos e biológicos que variam desde poluentes ambientais até agentes biológicos diversos. Esses poluentes induzem reações do organismo que se caracterizam por distúrbios circulatórios como congestão, telangiectasia, hemorragia e edema; proliferativos como hiperplasia epitelial e de células mucosas; inflamatórios como inflamação e degenerativos como necrose (SCHALCH et al. 2006).

Na presença de poluentes, as brânquias podem exibir modificações que são consideradas respostas de defesa, visto que algumas levam ao aumento da distância entre o meio externo e o meio interno, diminuindo assim a área da superfície em contato com o poluente. Porém, a dificuldade para a difusão do poluente para o meio interno ao mesmo tempo provoca redução na difusão dos gases respiratórios, podendo provocar hipóxia (MALLATT, 1985).

Telangiectasia lamelar ou aneurisma é uma alteração característica dos sinusóides branquiais e está associada a traumas físicos ou químicos. Apresenta-se após manejos mais severos e pode estar associada com lesões parasitárias, resíduos metabólicos ou contaminantes químicos. Quando muitas lamelas são afetadas a função respiratória pode diminuir especialmente em temperaturas altas, quando os níveis de oxigênio são baixos e a demanda metabólica é alta. Caso os peixes estejam traumatizados pode haver a ruptura das brânquias e morte por hemorragia (ROBERTS, 2001).

WINKALER et al. (2001) observaram em brânquias de lambari (*Astyanax jacuhiensis*) coletados no córrego Capivara local próximo a fábrica de baterias que apresentam níveis elevados de metais e Ribeirão Cambé poluído por esgoto doméstico em Londrina-PR, alterações severas como aneurisma lamelar, com rompimento das células pilares e dilatação dos canais sanguíneos, elevação epitelial caracterizada pelo descolamento do epitélio.

A utilização de herbicidas no ambiente aquático para o controle de macrófitas pode provocar efeitos adversos na morfologia dos peixes. Em tilápia (*Oreochromis niloticus*), o glifosato causou proliferação das células das lamelas secundárias, hiperplasia, fusão lamelar e aneurismas nas brânquias, vacuolização e picnose nuclear no fígado e dilatação do espaço de Bowman no rim (JIRAUNGKOORSKUL et al. 2002).

TAKASHIMA & HIBIYA (1995) citaram que muitos agentes podem produzir alterações como edema e hiperplasia epitelial das lamelas secundárias, infiltração de células epiteliais, fusão lamelar, como também a morte de células mucosas, devido a longos períodos de hipersecreção de muco; alterações estas decorrentes de resposta defensiva crônica às infecções parasitárias, bacterianas ou a irritantes químicos.

De acordo com SILVA (2004), as alterações que predominaram nas brânquias de lambari (*Astyanax jacuhiensis*) oriundos do ribeirão Cambé, Londrina-PR, próximo aos córregos da Mata, Bororé e Rubi, local bastante impactado, principalmente em função do despejo de esgoto doméstico e efluente rural, foram a elevação do epitélio lamelar com redução da distância interlamelar, aneurisma, hiperplasia interlamelar e fusão lamelar total.

O exame histopatológico das brânquias de tilápia (*Oreochromis niloticus*), carpa comum (*Cyprinus carpio*), traíra (*Hoplias malabaricus*), bagre americano (*Ictalurus punctatus*) e jundiá (*Rhamdia quelen*) oriundos da região do médio vale do Itajaí mostrou hiperplasia do epitélio de revestimento e de células mucosas das lamelas, congestão de moderada à severa, telangiectasia nas extremidades das lamelas, e presença de epiteliocistos (FRANCISCO, 2006).

Em brânquias de tilápia (*Oreochromis niloticus*) obtidas dos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro em São Paulo foi observada alterações como hiperplasia do epitélio do filamento e da lamela, descolamento do epitélio do filamento e da lamela, fusão completa e incompleta de lamelas, hipertrofia e hiperplasia de células do cloreto, hemorragia com ruptura do epitélio e aneurisma (LUPI, 2006).

Segundo FIGUEIREDO-FERNANDES et al. (2007), quando as brânquias de tilápia foram expostas a diferentes concentrações de sulfato de cobre apresentaram edema, “lifting” do epitélio lamelar e intensa vasodilatação do eixo lamelar, podendo apresentar com menos frequência fusão lamelar causada pela proliferação do epitélio filamentar e aneurismas lamelares.

Em brânquias de curimbatá (*Prochilodus lineatus*) confinados em ribeirão urbano de Londrina, Paraná, local poluído por esgotos domésticos e efluente rural, as lesões mais comumente encontradas foram elevação epitelial, hiperplasia e hipertrofia do epitélio respiratório, fusão lamelar e aneurismas (CAMARGO & MARTINEZ, 2007).

Ao analisar brânquias de exemplares de mandi (*Pimelodus maculatus*) do reservatório UHE Furnas - MG, NOGUEIRA et al. (2008) evidenciaram aneurisma, proliferação celular na lamela secundária e no filamento branquial, hipertrofia, congestão sanguínea no canal sanguíneo marginal e fusão lamelar como as principais alterações e que essas alterações indicam que os peixes estão respondendo aos efeitos de agentes tóxicos presentes na água e no sedimento.

FONTAÍNHAS-FERNANDES et al. (2008) em estudos com tilápia adultas de ambos os sexos expostas as águas residuais de estação de tratamento de esgoto, durante quatro dias, as brânquias colhidas após 24, 48, 72 e 96 horas evidenciaram alterações como edema, destacamento dos epitélios lamelar e filamentar e fusão lamelar, proliferação celular com consequente aumento da espessura do filamento branquial. Concluindo que a severidade das lesões aumentou com o tempo de exposição, principalmente a hiperplasia das células epiteliais com proliferação do epitélio filamentar e fusão das lamelas observadas com 96 horas de experimento.

GARCIA-SANTOS et al. (2007) estudaram a ação do cádmio na concentração de 25 mgl^{-1} durante quatro dias, sobre as brânquias de tilápia e observaram lesões epiteliais como: edema intersticial, vasodilatação das lamelas, destacamento do epitélio lamelar e proliferação do epitélio filamentar, fusão de lamelas, aneurisma e necrose.

As lesões encontradas por OGUNDIRAN et al. (2009), em brânquias de bagre-africano (*Clarias gariepinus*) expostos a diferentes concentrações de sabão e detergentes, foram infiltrado em lamela secundária, hiperplasia interlamelar, congestão, espessamento epitelial e necrose.

Fatores indutores de estresse como baixa qualidade da água (MALLATT, 1985), agentes tóxico-irritantes, metais pesados e pesticidas (SCHWAIGER, 1997), agentes infecciosos e parasitários (PAVANELLI et al. 2008) também levam ao comprometimento funcional dos filamentos e lamelas branquiais.

2.5 Alterações em fígado

O fígado é encarregado da detoxicação de produtos endógenos e exógenos como diferentes tipos de toxinas, drogas, metais pesados, pesticidas, entre outros (ROBERTS, 2001). Os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo de toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (ZELIKOFF, 1998).

Afecções hepáticas são pouco descritas em teleósteos, contudo, o fígado é sensível às intoxicações e alterações metabólicas. As intoxicações hepáticas podem desencadear necrose aguda e extensa nos hepatócitos, edema generalizado e vacuolização do citoplasma (ROBERTS, 1981).

Alterações como vacuolização dos hepatócitos, redução do estoque de glicogênio, inflamação, alteração no formato dos capilares sinusóides e neoplasmas podem ser interpretados como respostas ao estresse ambiental, sendo, considerados indicadores histopatológicos da qualidade do ambiente (THOMAS, 1990; TEH et al.1997).

SANTOS (2003) ao analisar características histológicas do tecido hepático de tilápias do Nilo alimentadas com ração contendo diferentes níveis de cobre observou degenerações dos hepatócitos e áreas de necrose.

No fígado de lambari (*Astyanax scabripinnis*) foram encontradas alterações como degeneração celular e nuclear, hipertrofia celular e nuclear e vacuolização citoplasmática, estagnação biliar e centro de melanomacrófagos em cinco pontos do ribeirão Cambé, Londrina-PR. Em alguns peixes coletados na nascente e nos pontos A (recebia esgoto doméstico) e C (recebia efluentes de uma cooperativa agroindustrial e domésticos) foram observados vacuolização nuclear e necrose (SILVA, 2004).

Em fígado de tilápia, criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga, SP, notou-se desarranjo da estrutura cordonal dos hepatócitos, formas indefinidas, com ou sem vacuolização, presença de núcleos picnóticos progredindo para cariólise, citoplasma com granulações densas (SANTOS et al. 2004).

FRANCISCO (2006) observou no fígado de peixes do médio Vale do Itajaí-SC, alterações como: perda de arranjo cordonal, esteatose discreta à moderada, necrose focal, apresentando células vacuolizadas e dispersas.

FLORES LOPES & MALABARBA (2007) estudaram peixes oriundos das lagoas de estabilização do Pólo Petroquímico do Sul, situado no município de Triunfo, RS e observaram que as alterações histopatológicas como vacuolização de hepatócitos, presença de pequena quantidade de glicogênio e centros melano-macrofágicos em amostras de fígado de lambari foram mais intensas em águas poluídas com efluentes que em outras onde os efluentes eram tratados, evidenciando eficácia do sistema de tratamento de efluentes realizados nessas lagoas.

Alguns autores demonstraram nos hepatócitos maior ocorrência de grânulos citoplasmáticos e agregados de macrófagos, associando-os ao sucesso reprodutivo, exposição metabólica e exposição a agentes patogênicos (RABITTO et al. 2006).

Em fígado de tilápia expostos a concentração de cobre de 1,0 e 2,5 mgL^{-1} evidenciou-se a presença de vacuolização e necrose (FIGUEIREDO-FERNANDES, 2007).

FUJIMOTO et al. (2008) observaram alterações histológicas em fígado de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), quando alimentados com dieta suplementada com cromo e em duas densidades de estocagem (4 e 20kg/m^3). O fígado caracterizou-se por distribuição cordonal dos hepatócitos e os sinusóides encontravam-se irregularmente distribuídos entre os hepatócitos, revestidos com células endoteliais. Já na densidade mais alta, as alterações histológicas apareceram no menor nível de cromo (6mg/kg), algumas regiões com congestão nos sinusóides e agravando-se no maior nível de cromo (18mg/kg) com regiões de necrose.

CAMARGO & MARTINEZ (2007) notaram hepatócitos hipertrofiados, degeneração citoplasmática e nuclear, agregados de melanomacrófagos, estagnação biliar e um caso de necrose focal com lesões mais severas no fígado de curimbatá (*Prochilodus lineatus*) confinados no ribeirão urbano em Londrina, PR.

As amostras de fígado de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimbatás (*Prochilodus lineatus*), capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul apresentaram hepatodistrofia difusa caracterizada principalmente por vacuolização, congestão e hemossiderose de leve a moderada. Em *P. mesopotamicus* havia também figuras hialinizadas semelhantes a estruturas de nematóides, esteatose, infiltrado inflamatório peri-portal crônico e necrose focal (CAMPOS et al. 2006).

2.6 Alterações em rim

Em peixes dulcícolas a principal função do rim é a excreção de grande quantidade de urina diluída. Devido a essa função e por receber grande fluxo sanguíneo, o rim pode ser considerado órgão alvo para os poluentes (HINTON et al.1992).

CAMARGO & MARTINEZ (2007) observaram alterações como o aumento do glomérulo, redução do espaço de Bowman, oclusão da luz tubular, degeneração granular e hialina no rim de curimbatá (*Prochilodus lineatus*) capturados em ribeirão urbano em Londrina, Paraná.

CAMPOS et al. (2008) estudaram peixes oriundos do Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul e observaram alterações teciduais em 95,23% das amostras de rim de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) analisados, sendo que em mais de 60% dos casos houve nefrodistrofia difusa moderada e congestão de sinusóides glomerulares e em mais de 40% hialinização tubular discreta. Também notaram edema intersticial discreto, focos hemorrágicos, nefrose discreta, glomeruloesclerose e cistos semelhantes aos de mixosporídios em menores proporções. Embora 100% das amostras de rins de curimbatá demonstrassem alguma alteração, com exceção da enorme quantidade dos centros de melanomacrófagos e congestão, outras alterações foram observadas em menos de 20% das amostras.

Em pesquisa de FUJIMOTO et al. (2008), a adição de cromo trivalente (0,6,12,18mg/kg) e as densidades de estocagem (4 e 20kg/m^3) não provocaram alterações na estrutura histológica dos rins de pacu.

Nas amostras de rim, FRANCISCO (2006) evidenciou necrose, hemorragia intersticial difusa discreta, nefrite intersticial focal e esteatose tubular discreta em peixes mantidos em monocultivo no médio Vale do Itajaí-SC. Já em policultivo havia hialinização tubular discreta, necrose, hemorragia focal, distrofia do néfron e vacuolização difusa moderada.

As lesões renais podem ser indicações de toxinas e assim podem ser utilizados como indicadores para o monitoramento de efeitos de contaminantes (HINTON & LAURÉN, 1990; SCHWAIGER et al. 1997).

O rim de lambari coletados em cinco pontos do ribeirão Cambé em Londrina-PR apresentou vacuolização citoplasmática, associada com degeneração granular e hialina e necrose nos túbulos proximais e distais, hipertrofia do núcleo e das células dos túbulos, degeneração tubular, dilatação dos capilares dos glomérulos, redução do espaço da cápsula de Bowman e hemorragia (SILVA, 2004).

CARDOSO et al. (2009) ao estudarem a concentração de mercúrio em músculo, rim e cérebro de peixe-espada (*Trichurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu, Niterói, RJ, verificaram alteração somente em rim, onde foi observado grande número de corpos melanomacrofágicos dispersos por todo o órgão, sendo que não foram

considerados graves e não tem relação com a contaminação por mercúrio, pois a concentração desse metal foi baixa. No entanto, é de extrema importância o monitoramento dessa espécie a fim de garantir a qualidade do pescado, tendo em vista sua importância para a saúde pública.

3. OBJETIVOS

Com base nas informações acima citadas este trabalho teve como objetivos avaliar a qualidade da água das pisciculturas e as alterações teciduais de órgãos de peixes provenientes de seis diferentes criatórios do município de Itapecuru Mirim, MA.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

A bacia hidrográfica do rio Itapecuru situa-se na parte centro-leste do Estado do Maranhão, entre as coordenadas 2º51' a 6º56' Lat. S e 43º02' a 43º58' Long W. Abrange uma área de 52.972,1 Km^2, que corresponde a cerca de 16% das terras do Maranhão. Limita-se ao sul e a leste com a bacia do rio Parnaíba pela serra do Itapecuru, chapada do Azeitão e outras pequenas elevações; a oeste e sudoeste com a bacia do Mearim e a nordeste com a bacia do Munim (ALCÂNTARA, 2004).

O rio Itapecuru nasce nas serras da Crueira, Itapecuru e Alpercatas, em altitudes em torno de 500m, percorrendo uma extensão de aproximadamente 1.050 km, até sua desembocadura na baía do Arraial, a sul da ilha de São Luís. Como afluentes importantes temos o rio Alpercatas, Corrente, Pucumã, Santo Amaro, Itapecuruzinho, Peritoró, Tapuia, Pirapemas, Gameleira e Codozinho. Pode ser caracterizado em três regiões distintas: Alto, Médio e Baixo Itapecuru (Figura 1). Fatores como as características da rede de drenagem, as formas de relevo e a navegabilidade foram os critérios utilizados pela Superintendência de Desenvolvimento do Nordeste (SUDENE) para dividir o curso do rio (BEZERRA, 1984)

Figura 1. Localização da Bacia do rio Itapecuru, Maranhão, Brasil. Os peixes foram colhidos em Itapecuru Mirim, no baixo curso.

O Alto Itapecuru vai da nascente do rio Itapecuru até o município de Colinas. A navegabilidade é difícil, e apenas em pequenas canoas, até o trecho em que o Itapecuru se encontra, na altura de Colinas, com o rio Alpercatas, seu mais importante afluente, que passa a contribuir com cotas significativas de água (ARANHA, 1992). Geomorfologicamente há predominância de chapadões, chapadas, apresentando relevo forte ondulado compondo as partes elevadas da baía com as serras de Itapecuru, Alpercatas, Croeira e Boa Vista. Nessas áreas a pecuária é explorada em regime de confinamento, havendo também a utilização de pequenos talhões com cultura de milho, feijão, arroz e mandioca, pastagens de gramíneas, além do extrativismo de coco babaçu (ALCÂNTARA, 2004).

O Médio Itapecuru começa no município de Colinas e termina em Caxias. Nesta área predomina o relevo de chapadas baixas. Regiões utilizadas para culturas de subsistência, extrativismo de coco babaçu e pecuária extensiva.

O Baixo Itapecuru tem sua origem no município de Caxias indo até a foz, na baía de São José. Compreende o trecho de maior navegabilidade. Contudo, esta é prejudicada pela baixa declividade do terreno que propicia a formação de bancos de areia a partir de Itapecuru Mirim até a foz, e pela Cachoeira de Vera Cruz que interrompe o tráfego por ocasião da baixa-mar (BEZERRA, 1984). Nessas áreas, os solos estão sendo utilizados predominantemente com pastagens implantadas, onde se verificam grandes derrubadas de babaçu e, em menor escala, culturas de arroz, feijão, milho e mandioca (ALCÂNTARA, 2004)

A aquicultura praticada na bacia do rio Itapecuru, apesar de empírica, é responsável por 40% do pescado consumido na região, onde estão registrados 22 criadores criando principalmente tambaqui (*Colossoma macropomum*), tilápia (*Oreochromis* spp), carpa (*Cyprinus carpio*), curimatá (*Prochilodus lineatus*), bagre africano (*Clarias gariepinus*), camarão gigante da malásia (*Macrobachium roserbergi*), camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) e rã (*Rana catesbiana*) (PAIXÃO-FILHO, 2003).

O rio Itapecuru é responsável por grande parte do abastecimento da água na capital São Luís e de Caxias. Entre as cidades que se encontram nas suas margens, destacam-se Caxias, Mirador, Colinas, Codó, Aldeias Altas, Timbiras, Coroatá, Pirapemas, Itapecuru Mirim, Santa Rita e Rosário. As águas proporcionam usos múltiplos como o abastecimento para a cidade de São Luís e de todas as cidades ribeirinhas e/ou adjacentes, transporte, lavagem de roupa, recreação, pesca, dessedentação de animais, agricultura de vazante e piscicultura.

Os principais problemas ambientais encontrados no rio Itapecuru são os seguintes: desmatamento da mata ciliar que leva à erosão das margens, poluição devido ao lançamento dos esgotos domésticos e industriais nas principais cidades e pelo escoamento natural dos esgotos domésticos nos principais povoados.

4.2 Locais de colheita

Após contato com a colônia de pescadores do município de Itapecuru Mirim e com médicos veterinários da AGED (Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão) foi possível a colheita de exemplares de peixes.

Foram realizadas sete colheitas durante o período chuvoso, sendo duas em março, uma em maio e outra em junho de 2008 e no período seco uma em cada um dos meses de setembro e novembro de 2008 e janeiro de 2009.

Os pontos de colheitas foram as pisciculturas: A, B, C, D, E e F (Figura 2). As coordenadas geográficas das pisciculturas encontram-se descritas no Quadro 1.

A piscicultura A composta por sessenta tanques-rede (2,5x3x1,5m de profundidade) no rio Itapecuru Mirim, MA, em cada tanque eram colocados mil alevinos de tilápia com uma taxa de arraçoamento de 1,5kg/3x ao dia de ração.

A piscicultura B composta por doze tanques-rede (2x3x1,5m de profundidade) no rio Itapecuru Mirim, MA, em cada tanque eram colocados 800 alevinos de tilápia e o manejo alimentar era de 500g/4x ao dia e a quantidade da ração aumentava de acordo com o crescimento.

A piscicultura C criava tilápia em seis viveiros de terra (100x30/1,80m de profundidade), em cada tanque eram colocados cinco mil alevinos e no manejo alimentar dos alevinos eram fornecidos 1kg/3x ao dia e adultos 3,5kg por viveiro.

A piscicultura D criava tambacu em quatro viveiros de terra (20x30/3m de profundidade), em cada tanque eram colocados três mil alevinos, manejo alimentar era de 50 a 100g/2 em 2 horas para alevinos e de adultos 4,5g/3x ao dia por viveiro.

A piscicultura E criava tambacu em três viveiros de terra (100x22/3m de profundidade), em cada tanque eram colocados três mil alevinos e o manejo alimentar era de 50 a 100g de 2 em 2 horas e adultos de 4,5g/3x/dia por viveiro.

A piscicultura F criava tambacu em onze viveiros de terra (20x30/1,50m de profundidade), em cada tanque eram colocados mil alevinos e o manejo alimentar seguia a tabela da purina de acordo com tamanho, peso e quantidade de peixes.

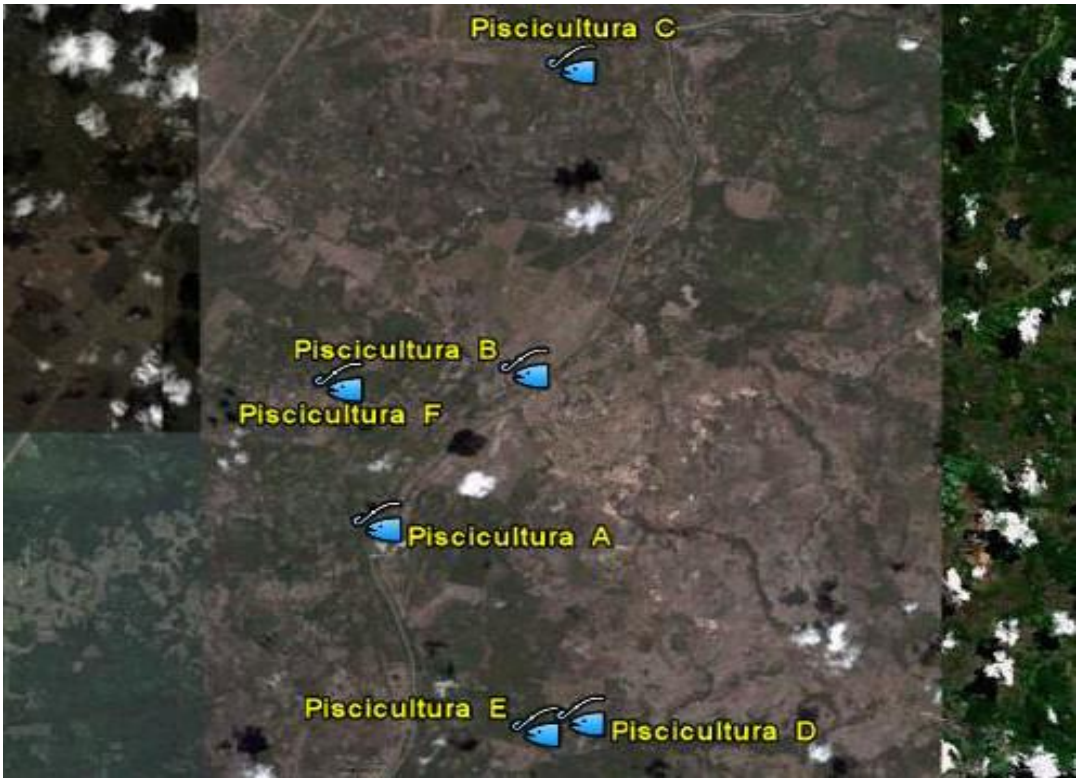

Figura 2. Fotografia de satélite dos pontos de colheita. Fonte: Google Earth.

Quadro 1. Coordenadas geográficas e tipos de criatórios das pisciculturas do município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Pisciculturas	Tipos de criatórios	Latitude	Longitude
A	Tanque-rede	3º25’41.28”S	44º23’14.60” W
B	Tanque-rede	3º23’32.33”S	44º21’39.92”W
C	Viveiro de terra	3º28’33.2’’S	44º21’01.5’’W
D	Viveiro de terra	3º19’09”S	44º21’08.4’’W
E	Viveiro de terra	3º23’44.1”S	44º24’06.3’’W
F	Viveiro de terra	3º28’42.4”S	44º21’35.5’’W

4.3 Animais

Foram capturados 57 peixes adultos com o auxílio de rede de pesca, sendo 32 de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e 25 do híbrido tambacu (*Colossoma macropomum* fêmea x *Piaractus mesopotamicus* macho), oriundos de piscicultura em tanque-rede no baixo curso do rio Itapecuru Mirim, MA (Figura 3) e criatórios de viveiro de terra do município abastecidos por água desse rio (Figura 4). Nos criatórios trabalhados empregava-se o monocultivo e predominava a criação de tilápia e tambacu, tendo como fins a atividade de subsistência para a comunidade local. O quadro 2 mostra o local, mês e quantos peixes foram capturados em cada piscicultura.

Quadro 2. Mês de colheita e número total de tilápia e tambacu colhidos de piscicultura do município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Piscicultura	Mês	Peixes
A	Março e novembro	10 tilápias
B	Março e novembro	10 tilápias
C	Maio e setembro	12 tilápias
D	Setembro e janeiro	8 tambacus
E	Junho e novembro	10 tambacus
F	Maio e janeiro	7 tambacus

Figura 3. Piscicultura B em tanque-rede no Rio Itapecuru Mirim, Maranhão

Figura 4. Piscicultura C em viveiro de terra no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

4.4 Avaliação histopatológica

Os peixes capturados de forma aleatória foram avaliados macroscopicamente e logo após, eutanasiados por comoção cerebral. Em seguida, realizou-se a necropsia e colheita de fragmentos de brânquias, fígado e rim, os quais foram fixados em formalina a 10%, por 24 a 48 horas e conduzidos ao Laboratório de Morfofisiologia do Departamento de Química e Biologia, do Centro de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Estadual do Maranhão, para posterior análise. As amostras de brânquias foram inicialmente descalcificadas em ácido nítrico a 10% por seis horas. Procedeu-se etapas como desidratação em banho de álcoois crescentes, diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo na espessura de cinco micrômetros e os cortes corados com hematoxilina e eosina (LUNA, 1968).

A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de luz utilizando-se as objetivas 4x, 10x, 20x e 40x e as alterações estruturais descritas. Em seguida foram fotomicrografadas em fotomicroscópio Olympus BX51.

4.5 Avaliação microbiológica

4.5.1 Brânquias

As análises microbiológicas das brânquias foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão. A metodologia adotada constou da pesagem de 10g das brânquias e adição de 90mL de água peptonada a 0,1% e a partir desta diluição inicial prepararam-se as demais diluições (10^{-2} e 10^{-3}). Em seguida, uma alíquota de 1 mL de cada diluição era vertido em placa de Petri esterilizada e por cima derramava-se o Ágar padrão para contagem (PCA). As placas eram então incubadas em estufa bacteriológica a 35 ^{o}C e decorridas 24-48 horas contavam-se as colônias e realizava-se a coloração Gram para caracterização da microbiota, se Gram positiva ou Gram negativa (BRASIL, 1993).

4.5.2 Água das pisciculturas

As amostras de água das pisciculturas foram colhidas em frascos esterilizados (500mL) com profundidade de 80cm abaixo da superfície, acondicionadas em caixa de material isotérmico contendo cubos de gelo e transportadas para o Laboratório de Alimentos e Água do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão. Foram analisadas de cada piscicultura duas amostras de água. Sendo uma durante o período chuvoso e outra no período seco. Os parâmetros microbiológicos foram analisados segundo a metodologia recomendada pela APHA (1995; 2005), para determinação do número mais provável de coliformes totais e *Escherichia coli* utilizou-se os testes do substrato enzimático cromogênico (ONPG) e fluorogênico (MUG).

De cada amostra colhida, 100mL de água era vertido em frascos contendo o meio de cultura à base de sais e fontes de carbono e nitrogênio e dois nutrientes específicos: orto-nitrofenil β-D-galactopiranisídeo (ONPG) para diferenciação dos organismos que apresentam as enzimas de fermentação lactoseβ-galactosidase, os coliformes totais e o 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronidase (MUG), para diferenciação de *E. coli*, que apresenta a enzima β-glicuronidase. Em seguida, o meio foi distribuído em cartelas Quanti-Tray, sendo estas seladas e incubadas em estufa a $35^{+/-}0{,}5^{o}$C, por 24 horas. As amostras coliformes positivas foram detectadas visualmente pelo aparecimento de coloração amarela no meio de cultura e após contagem dos cubos amarelos e interpretação do NMP em tabela de conversão própria. A presença de *E. coli* foi observada pela fluorescência quando exposta a luz UV de 6 w, ondas longas de 365nm e o NMP foi interpretado de forma semelhante ao realizado para coliformes.

Para contagem de bactérias heterotróficas utilizou-se o substrato de enzimas múltiplas através do método SimPlate que analisa o número mais provável de bactérias heterotróficas. Dissolveu-se o substrato enzimático em 9 mL de água destilada esterilizada, homogeneizou-se e adicionou-se 1mL da amostra de água colhida, então o conteúdo foi distribuído uniformemente na placa. Em seguida, as amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 35ºC ± 0,5°C, por 48 horas. As amostras positivas foram detectadas pela formação de colônias com fluorescência quando expostas a luz

UV de 6w, ondas longas de 365nm. Após a contagem das colônias a interpretação foi realizada pela tabela de conversão própria em número mais provável (NMP).

4.6 Avaliação físico-química da água

Avaliou-se pH, turbidez, nitrato e fosfato das águas das pisciculturas foram analisadas no Laboratório de Físico-química da Universidade Estadual do Maranhão.

A determinação do pH da água foi realizada em pH-metro Tec-3mp. A turbidez foi observada em espectrofotômetro através do ajuste do aparelho para um comprimento de onda de 420 nm. Em seguida, colocou-se a célula com água destilada, calibrou-se o equipamento e depois foi colocada uma parcela da água na cubeta do espectrofotômetro comparando-se o feixe de luz que passava pela amostra de água com o espalhamento de um feixe de igual intensidade que passava pela suspensão padrão, expressando-se os resultados em unidade de turbidez (UT)

A detecção do teor de nitratos foi realizada pelo método colorimétrico com salicilato de sódio e a leitura em espectrofotômetro modelo Cary 1E/UV, empregando-se a metodologia segundo SILVA & OLIVEIRA (2001). O método consistiu primeiramente na preparação dos padrões de nitrogênio nítrico na faixa de concentração para a qual se desejava preparar a curva de calibração. Foi preparada a prova em branco em 100 mL de água destilada e os padrões 1, 2, 3, 4 e 5mg N-NO3 /L, preparados respectivamente a partir de 1, 2, 3, 4 e 5mL da solução estoque de nitrato diluído para 100mL em água destilada.Tomou-se 20mL da amostra pré-tratada ou simplesmente filtrada, ou mesmo da amostra bruta que se apresentava muito clara, colocou-se 1mL de solução de salicilato de sódio em elernmayer e levou-se para a estufa a 150ºC durante 2 horas, até secar e depois esfriar; adicionou-se em seguida 2mL de ácido sulfúrico concentrado espalhando-se, por rotação da cápsula, sobre o resíduo deixado pela amostra evaporada e aguardou-se 10 minutos; adicionou-se lentamente 15mL de água destilada, e em seguida, 15mL da solução básica de tartarato de sódio e potássio, esperou-se 10 minutos para o desenvolvimento pleno da cor e posteriormente realizou-se a leitura da absorbância a 420nm no espectrofotômetro.

A detecção do teor de fosfato foi realizada pelo método colorimétrico por redução com ácido ascórbico e leitura em espectrofotômetro modelo Cary 1E/UV. Assim como o método de detecção de nitrato foi realizada primeiramente a preparação dos padrões; pipetando-se 2mL da solução estoque de fosfato ácido de potássio (KH2PO4) em um balão volumétrico de 100mL e completando-se o volume com água destilada. Repetiu-se a operação com 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25mL da solução estoque de fosfato, correspondendo, respectivamente, aos padrões 1, 2, 3, 4, 5mg P-$PO^3$4/ L. Mediu-se 50mL da amostra filtrada e adicionou-se 8mL do reagente molibidato de amônio nas amostras e nos padrões; leu-se a absorbância em espectrofotômetro a 880nm, entre 10 a 30 minutos após adição do reagente combinado.

4.7 Análise estatística

Para o estudo das dependências da época do ano sobre a ocorrência de lesões em brânquias, fígado e rim, assim como o tipo de tanque, espécies de peixes e locais de coleta, foi utilizado o teste Exato de Fisher, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 2000).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Qualidade microbiológica da água das pisciculturas

Os resultados dos exames microbiológicos da água das pisciculturas do município de Itapecuru Mirim estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores microbiológicos da água das pisciculturas do município de Itapecuru Mirim, MA em diferentes pontos de colheita durante os períodos chuvoso e seco expressos em NMP*.

	Período chuvoso			**Período seco**		
Pisciculturas	Coliformes totais	*Escherichia coli*	Bactérias hetrotróficas	Coliformes totais	*Escherichia coli*	Bactérias Heterotróficas
A (TR)	173,3	111,8	>738	>2419,6	290,9	355
B (TR)	>2419,6	396,18	623	>2419,6	387,3	>738
C (VT)	24,8	2,0	507	>2419,6	182,9	>738
D (VT)	>2419,6	25,4	339	>2419,6	>2419,6	507
E (VT)	>2419,6	235,9	555	>2419,6	98,5	355
F (VT)	2419,6	2,0	440	2419,6	8,4	>738

*NMP (Número mais provável /100mL da amostra), TR(tanque-rede) e VT(viveiro de terra)

Em todas as pisciculturas observou-se a presença de coliformes totais, *E. coli* e bactérias heterotróficas e mesmo não havendo normas do CONAMA quanto ao tamanho da população de coliformes totais, a contagem destes microrganismos nas pisciculturas caracteriza a água com excesso de material orgânico que poderia ser prejudicial para a criação de peixes. No entanto, apenas a piscicultura D apresentou população de *Escherichia coli* acima de 1000coliformes/100mL em amostra colhida no período seco. Então, provavelmente existe nessa piscicultura alguma fonte pontual de

poluição, como descarga de esgoto doméstico, que leva ao o aumento de nutrientes na água que favorecem a proliferação e multiplicação de bactérias. Esse resultado está em desacordo com a Resolução do CONAMA N^0 357 de 17 de março de 2005, que estabelece que a contagem de coliformes não exceda 1000mL/100mL da amostra para água doce (classe 2) destinada à piscicultura. A presença dessas bactérias provavelmente está relacionada ao lançamento de esgotos domésticos diretamente no rio, já que essa piscicultura é abastecida por água do rio. Sob o ponto de vista de saúde pública, o consumo de peixes oriundos de tanques com resíduos orgânicos seja de origem animal e de ser humano, adverte para o cuidado na manipulação no momento da retirada das vísceras e no preparo do produto, pois esta é uma via potencial de transmissão de bactérias patogênicas, por isso a comunidade consumidora, principalmente crianças e idosos correm o risco de apresentar quadros de infecção de origem alimentar (STRAUSS, 1985). Os resultados deste trabalho corroboram os de LORENZON (2009), que encontrou coliformes totais, termotolerantes em tilápia e na água de pesque-pagues situados na microbacia de Córrego Rico, SP, sendo que o número mais provável (NMP) de coliformes totais na água de criação variou de $4,2 \times 10^4$ a $2,4 \times 10^5$ NMP.100mL^{-1} e de coliformes termotolerantes foi de $3,8 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^4$ NMP. 100mL^1. Para este pesquisador a qualidade da água deve ser monitorada e medidas de controle da contaminação aplicadas, no sentido de minimizar o risco de doenças transmitidas pelo consumo de peixe produzidos nos pesque-pagues.

Vale ressaltar que a má qualidade da água, além de contaminar os peixes e gerar risco aos consumidores, pode resultar na queda de imunidade do peixe devido ao estresse, aumentando sua suscetibilidade às infecções.

5.2 Qualidade físico-química da água

A qualidade da água das pisciculturas em relação aos parâmetros físico-químicos consta na tabela 2.

Tabela 2. Valores físico-químicos da água das pisciculturas do município de Itapecuru Mirim, MA em diferentes pontos de colheita durante os períodos chuvoso e seco

	Período chuvoso				Período seco			
Pisciculturas	Turbidez (UT)	pH	Nitrato (mg/L)	Fosfato (mg/L)	Turbidez (UT)	pH	Nitrato (mg/L)	Fosfato (mg/L)
A	23,5	6,75	0,000	0,13	7,8	6,54	0,016	0,018
B	22,6	6,15	0,000	0,19	8,6	7,4	0,039	0,005
C	7,8	7,12	0,000	0,01	38,1	6,8	0,353	0,117
D	58,3	6,81	0,2	0,26	472,7	6,82	2,046	0,082
E	45,6	6,56	0,1	0,13	160,0	5,48	0,096	0,014
F	0,0	7,23	3,9	0,03	24,2	6,01	0,097	0,075

A turbidez é a medida da interferência à passagem da luz através do meio sendo proporcionada pela presença de partículas em suspensão. Esse material é constituído por partículas de solo e resíduos orgânicos, que geralmente entram no corpo hídrico em razão da ocorrência de processos erosivos no solo, material orgânico e inorgânico presente em razão do lançamento de esgotos domésticos ou industriais na água e a presença de algas e pequenos animais (ALBANEZ & MATOS, 2007). A maioria das pisciculturas apresentou índice de turbidez dentro do padrão recomendado pela Resolução do CONAMA de 2005 para águas de classe 2 que deve ser de até 100 UT (Unidade de Turbidez). Entretanto na água da piscicultura D e E esse índice estava

elevado alcançando 472.7 e 160.0, respectivamente, durante o período seco. A elevada turbidez encontrada dificulta a penetração de luz na água reduzindo a fotossíntese de vegetação enraizada submersa e algas. Esse desenvolvimento reduzido de plantas pode, por sua vez, suprimir a produtividade de peixes. Logo, a turbidez pode interferir nas comunidades biológicas aquáticas.

O potencial hidrogeniônico (pH) expressa a atividade de íons H^+ no meio e determina seu caráter ácido ou alcalino. CASTAGNOLLI (1992) verificou que oscilações bruscas de pH na água dos viveiros provocam razoável consumo de energia para a adaptação do peixe às oscilações osmóticas nos filamentos branquiais durante a respiração. A atividade metabólica dos próprios peixes ou outros animais aquáticos produz ácidos que, em sistemas fechados como os tanques de cultivo, tendem a se acumular gradualmente reduzindo o pH e quando igual a 5,5 é potencialmente estressante e se mais baixo, é letal (MORAES & MARTINS, 2004). O valor de pH da água da piscicultura E encontrado foi de 5,48 durante o período seco e esse valor está em desacordo com a Resolução do CONAMA de 2005, que varia de 6 a 9, valores esses que indicam a adequação para a atividade de piscicultura. O valor encontrado na água dessa piscicultura estava abaixo do limite e tende a provocar estresse nos peixes, predispondo-os às doenças infecciosas e parasitárias.

Nos ambientes aquáticos, as formas de nitrogênio podem ser: nitrato (NO_3), nitrito (NO_2), amônia (NH_3), íon amônio (NH_4), óxido nitroso (N_20), nitrogênio molecular (N_2), nitrogênio orgânico dissolvido (aminas, aminoácidos) e nitrogênio orgânico particulado (bactérias, fitoplâncton, zooplâncton e detritos) (LIMA 2001). Segundo SIPAÚBA-TAVARES et al. (2003b), altas concentrações de compostos nitrogenados estão associadas aos processos de excreção dos peixes e à matéria orgânica oriunda de alimento não digerido e da própria biota aquática. Já baixas concentrações de amônia e elevadas de nitrato aumentam a disponibilidade de nitrogênio (KARJALAINEN et al.1998). Para VON SPERLING (1996), em um corpo d'água, a determinação da parcela predominante de nitrogênio pode fornecer informações sobre o estágio da poluição. Os compostos de nitrogênio, na forma orgânica ou de amônia, referem-se à poluição recente, enquanto que nitrito e nitrato à poluição mais remota.

Em corpos de água doce a concentração de fósforo solúvel (PO_4^-) em geral, determina sua produtividade. No ambiente aquático o fósforo usualmente se apresenta em baixa concentração. Nos viveiros a disponibilidade de nutrientes é máxima em níveis de pH próximos da neutralidade e em valores maiores que 8,0, os nutrientes tem sua disponibilidade sensivelmente reduzidas (BASTOS, 2003).

O nitrogênio e fósforo são essenciais à vida aquática e constituem um importante índice da presença de despejos orgânicos recentes quando em altas concentrações

Os valores de fosfato da água das pisciculturas A, B, D, E e F durante o período chuvoso e C, D e F no período seco estão em desacordo com a Resolução do CONAMA de 2005, pois foram elevados e o valor aceitável é de 0,025mg/L. A presença de fosfato associada a elevada contagem de *E.coli* na água da piscicultura D pode ser explicada pela descarga de efluentes domésticos, principalmente na forma de detergentes, assim como possível lixiviação do solo carregando defensivos agrícolas e dejetos animais para os corpos d'água.

Segundo a Resolução do CONAMA de 2005 o nitrato em águas de pisciculturas deve ser de até 10mg/L, no presente estudo este parâmetro físico-químico esteve dentro do padrão em todas as amostras analisadas.

5.3 Microbiologia das brânquias

A coloração de Gram das bactérias oriundas de 32 exemplares de brânquias de tilápias e 25 de tambacu demonstrou que dentre as colônias bacterianas havia percentual de cocos Gram-positivos maior que 40,62%, seguidos de cocos Gram-negativos com 25%, bastonetes Gram-positivos da ordem de 21,87%, bastonetes Gram-negativos com 6,25% e diplococos Gram-positivos com 6,25% para brânquias de tilápias (Figura 5). Em tambacu os cocos Gram-positivos foram 52%, seguidos de cocos Gram-negativos com 20%, bastonetes Gram-positivos com 20% e bastonetes Gram-negativos com 8% (Figura 6).

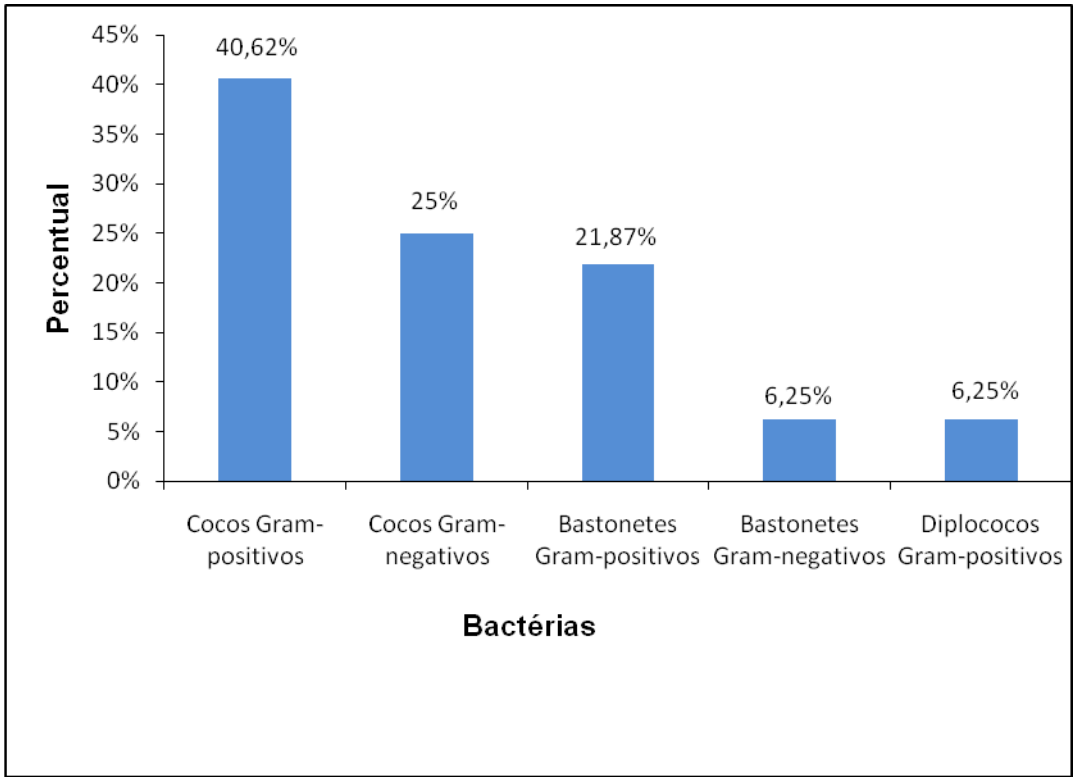

Figura 5. Representação gráfica do percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias de tilápia de pisciculturas do município de Itapecuru Mirim, Maranhão

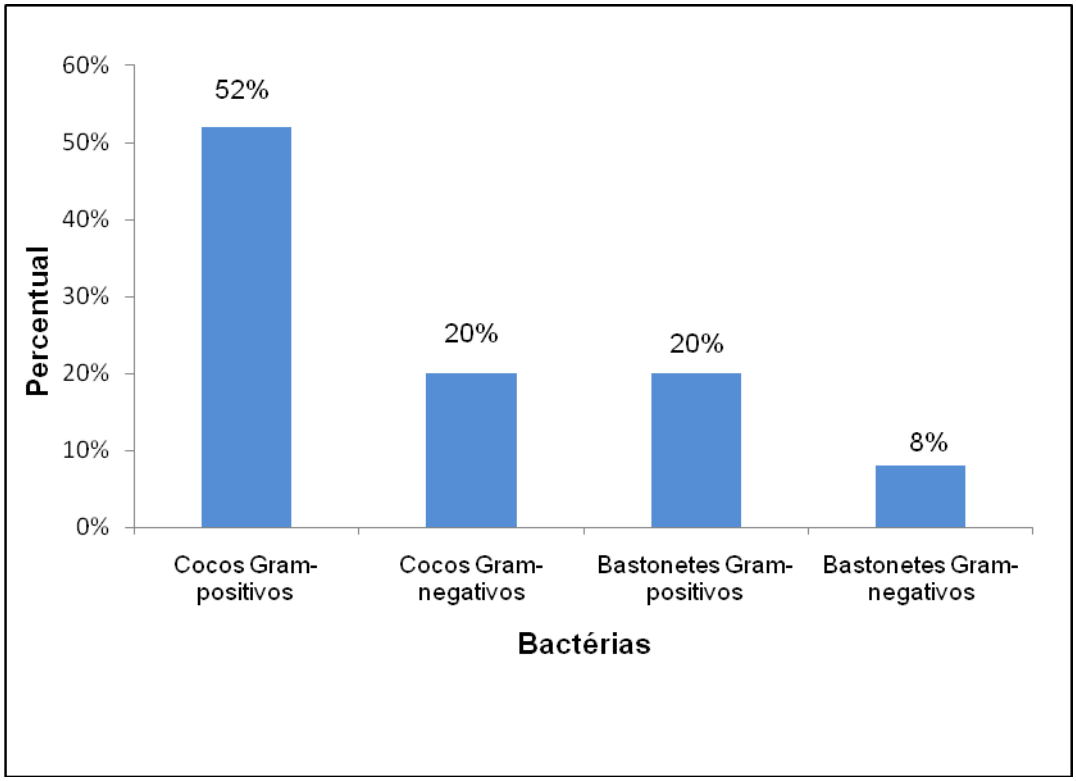

Figura 6. Representação gráfica do percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias de tambacu de pisciculturas do município de Itapecuru Mirim, Maranhão

A coloração de Gram das bactérias oriundas de brânquias de tilápia dos seis pontos de colheita foi a seguinte: piscicultura A com percentual de 9,6% de cocos Gram-positivos, 12,8% de cocos Gram- negativos e 9,6 de bastonetes Gram-positivos (Figura 7); piscicultura B com percentual de 9,6% tanto para cocos Gram-positivos quanto para Gram-negativos e 6,4% tanto para bastonetes Gram-positivos quanto para bastonetes Gram-negativos (Figura 8) e piscicultura C com 18,67% de cocos Gram-positivos, 5,33% de cocos Gram-negativos, 5,33% de bastonetes Gram-positivos e 2,67% de bastonetes Gram-negativos (Figura 9).

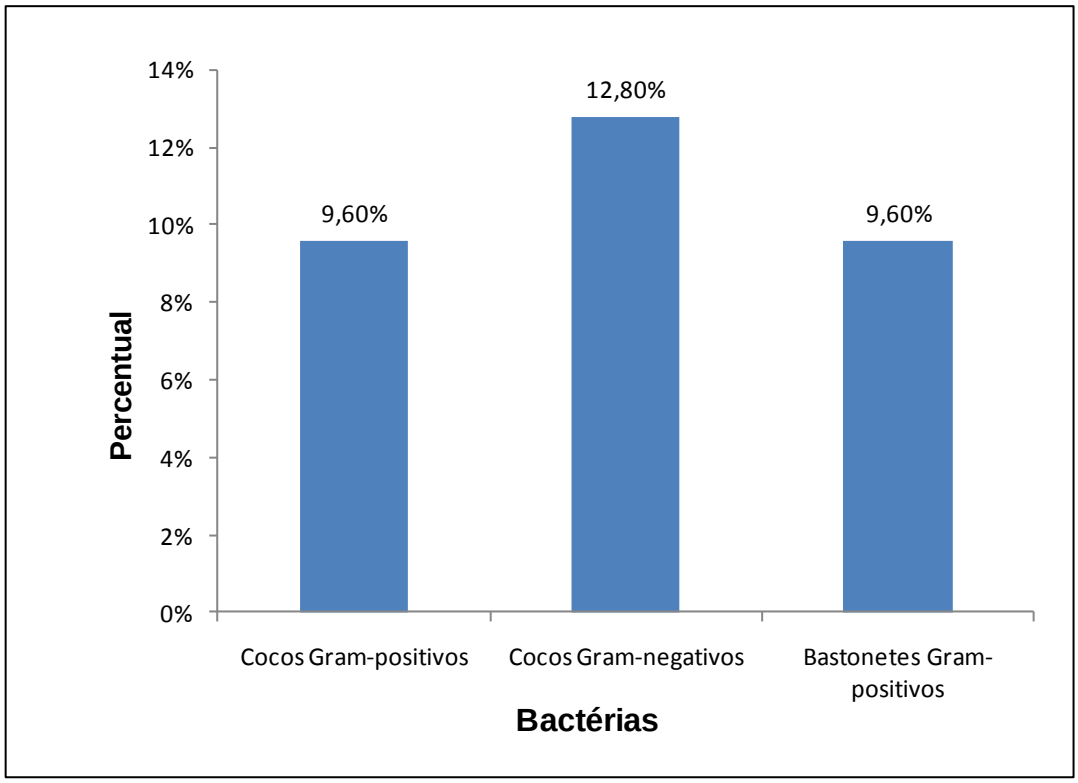

Figura 7. Percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias de tilápia da piscicultura A no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

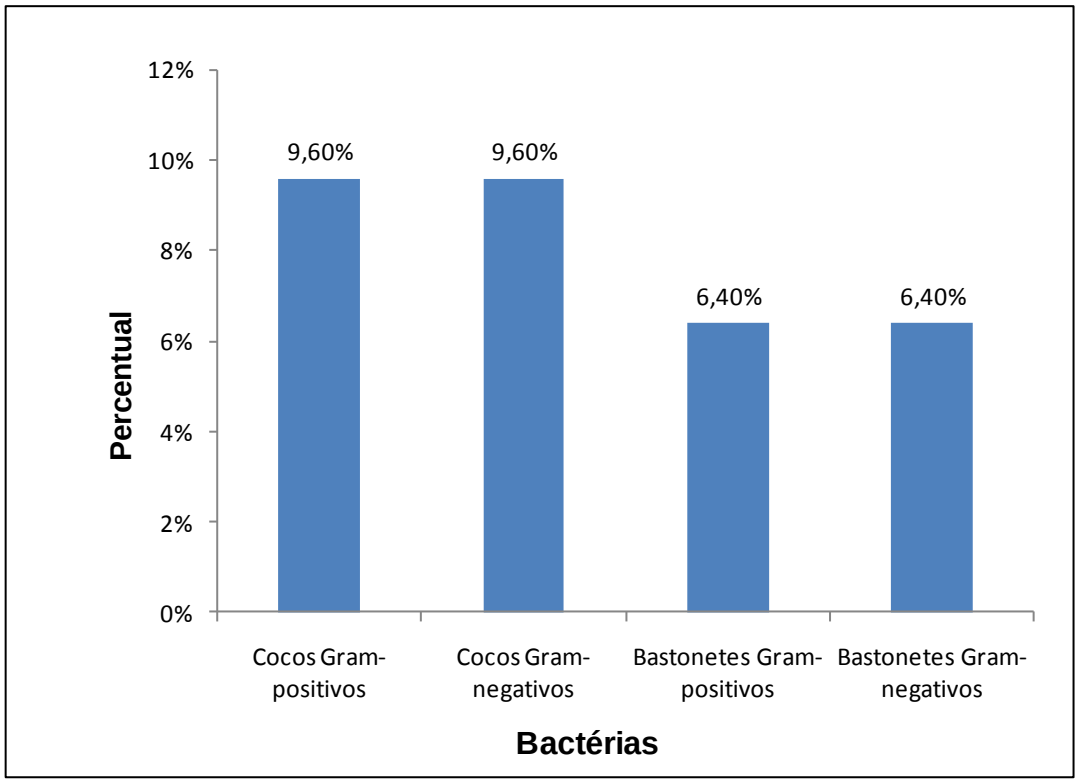

Figura 8. Percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias de tilápia da piscicultura B no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

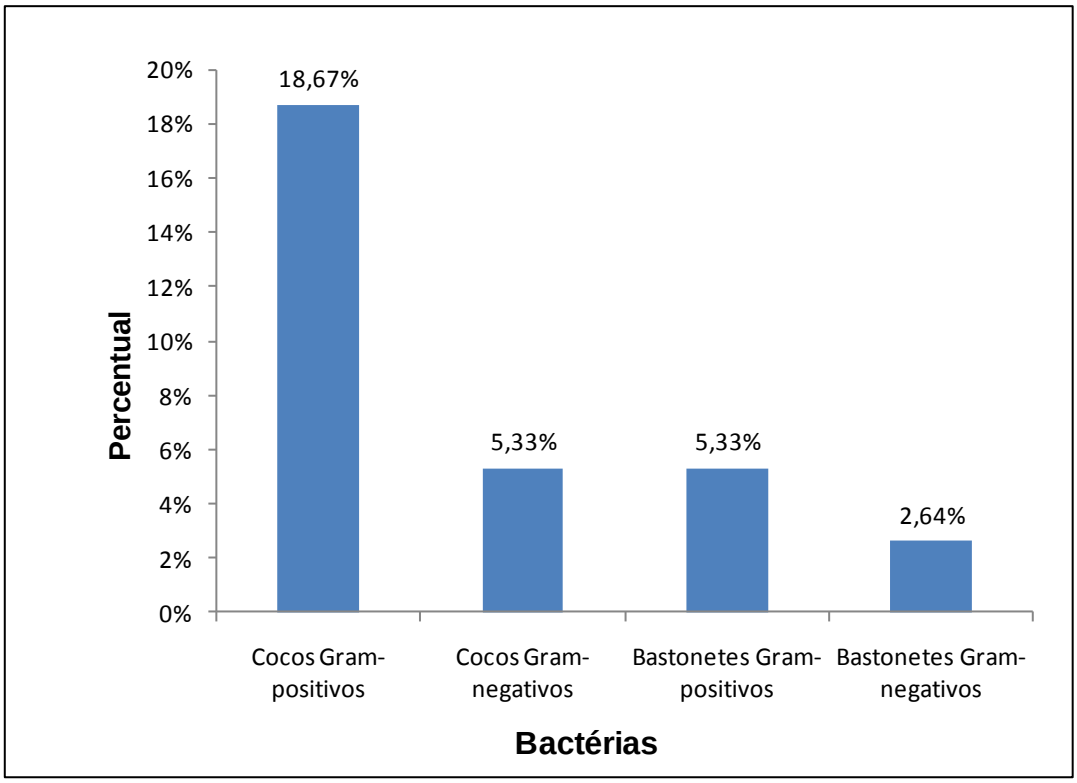

Figura 9. Percentual da microbiota Gram-positiva e negativa brânquias de tilápia da piscicultura C no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Em brânquias de tambacu o percentual por ponto de colheita foi o seguinte: na piscicultura D 12,62% de cocos Gram-positivos, 3,12% para cocos Gram-negativos, bastonetes Gram-positivos e diplococos Gram-positivos (Figura 10); na piscicultura E, 14,28% de cocos Gram-positivos, 3,57% de bastonetes Gram-positivos e 7,14% de bastonetes Gram-negativos (Figura 11) e piscicultura F,12,5% de cocos Gram-positivos, 5% de cocos Gram-negativos e bastonetes Gram-positivos e 2,5% de diplococos Gram-negativos (Figura 12).

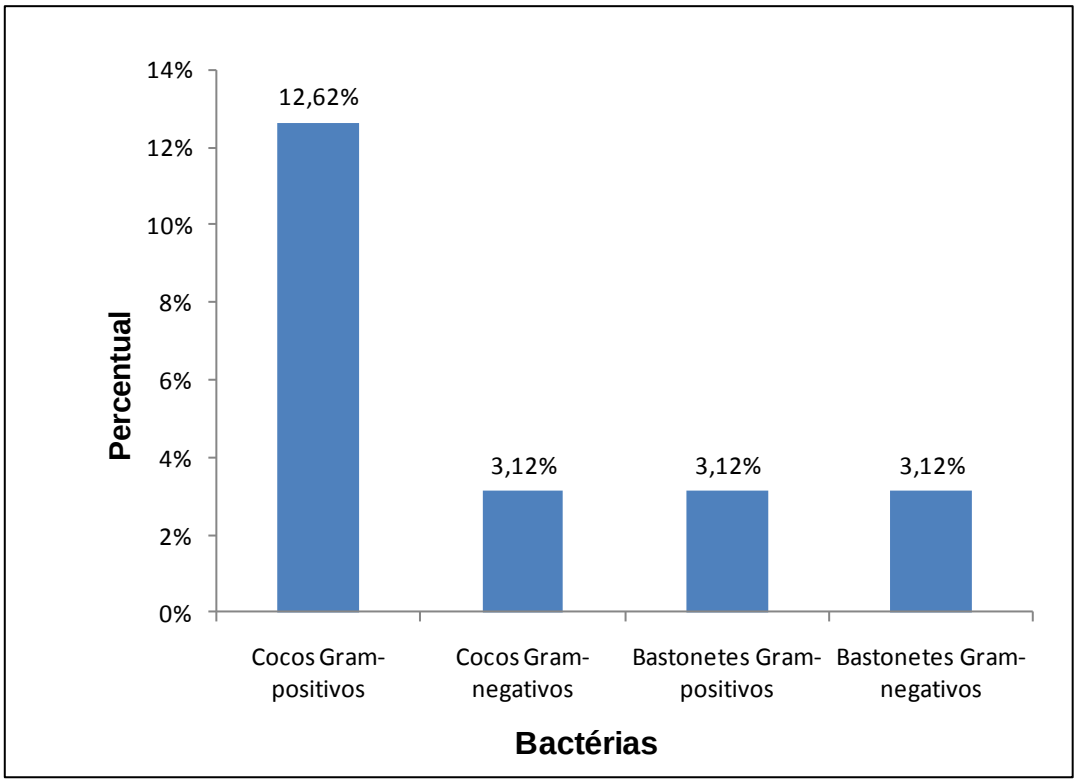

Figura 10. Percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias de tambacu da piscicultura D no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

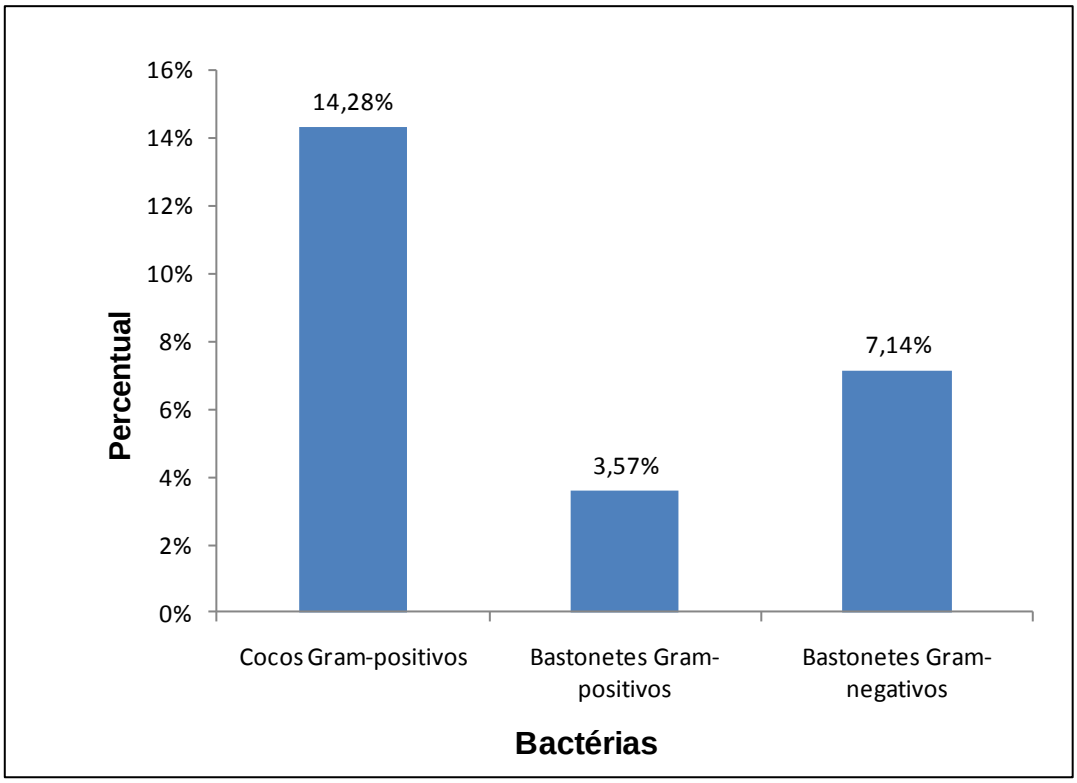

Figura 11. Percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias tambacu da piscicultura E no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

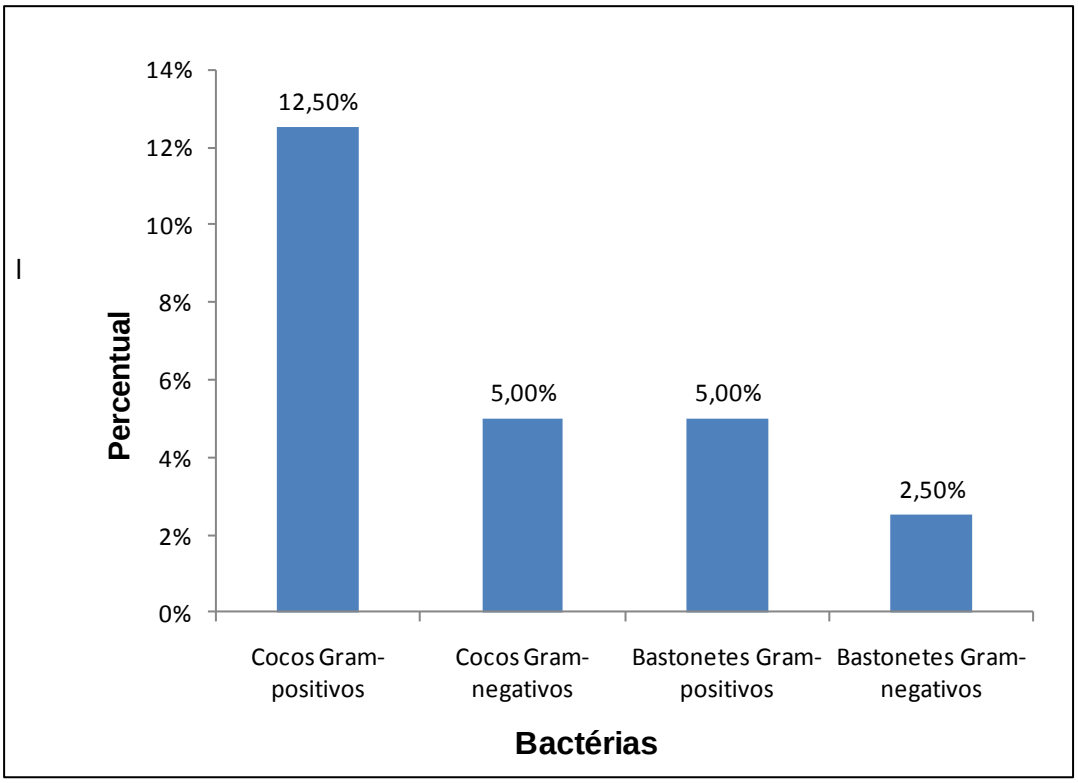

Figura 12. Percentual da microbiota Gram-positiva e negativa de brânquias de tambacu da piscicultura F no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Agentes como *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio anguillarum* e *Edwardsiella tarda* são considerados oportunistas, e fazem parte da microbiota da água, pele, brânquias e intestino dos peixes. Quando há desequilíbrio do sistema ambiente-bactéria-hospedeiro, podem desencadear epizootias (BARJA & ESTEVES, 1988). Os bastonetes Gram-negativos e cocos Gram-positivos encontrados sugerem a presença de pelo menos parte dessas bactérias.

5.4 Histopatologia

5.4.1 Brânquias

A multifuncionalidade das brânquias é refletida pela complexidade do seu epitélio que pode ser dividido em epitélio filamentar (Figura 13a) estratificado que reveste o filamento e se encontra em contato direto com o seio venoso central e epitélio lamelar que delimita as lamelas e está em contato exclusivo com o sistema vascular artério-arterial.

O epitélio filamentar é constituído por células do cloro, células pavimentosas e células mucosas. A presença de células acessórias e neuroepiteliais, bem como, células indiferenciadas, também é característica do epitélio filamentar. O epitélio lamelar consiste de uma camada mais externa de células pavimentosas e por uma camada mais interna de células menos diferenciadas.

Nestas observações as lesões que predominaram nas brânquias foram fusão de lamelas e hiperplasia interlamelar (Figura 13b), edema sub-epitelial (Figura 13c) e telangiectasia (Figura 13d).

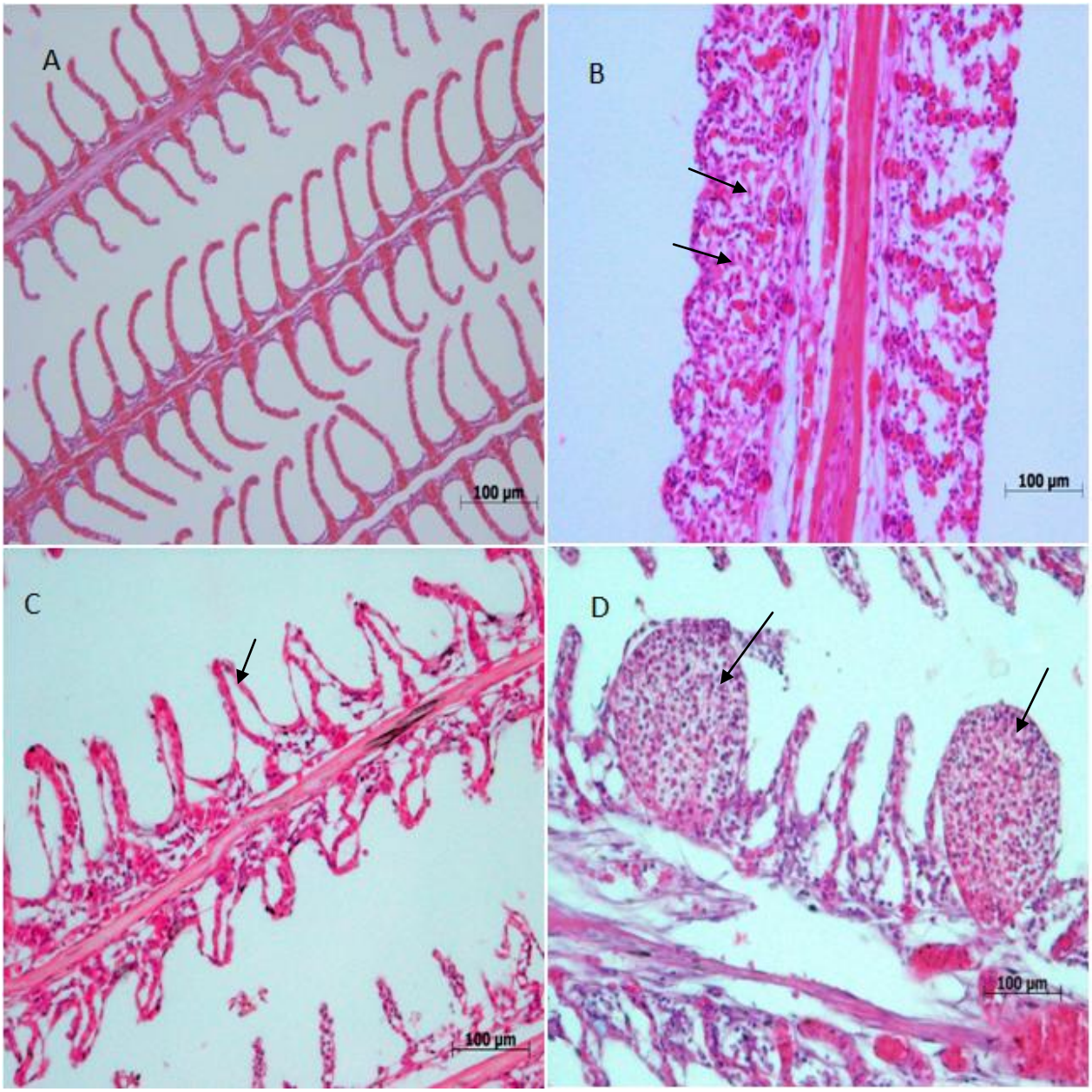

Figura 13. Fotomicrografia de brânquias. Em A, mostrando a sua morfologia normal em espécie como o tambacu. Em B - brânquias de tilápia evidenciando hiperplasia epitelial e fusão de lamelas (setas); C- mostrando descolamento do epitélio provavelmente devido a edema sub-epitelial (seta) e D apresentando telangiectasia (setas), H.E.

Em ambiente aquático degradado, particularmente quando há poluentes em concentrações subletais e crônicas, alterações da estrutura e função dos organismos aquáticos ocorrem mais frequentemente que mortalidade em massa. Por isso, na avaliação dos efeitos de poluentes em peixes de água doce o que deve ser levado em consideração são as mudanças morfológicas nos órgãos e tecidos.

Pela análise estatística, os resultados deste estudo demonstraram que não houve diferença estatística (p>0,05) quando se comparou os diferentes tipos de lesões branquiais com os períodos de chuva ou de seca. Sendo assim, as lesões independem da precipitação pluviométrica (Tabela 3).

Tabela 3. Ocorrência de alterações em brânquias de peixes colhidos nos períodos chuvoso e seco no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Alterações Branquiais	Ausência (A) Presença (P)	Chuvoso	Seco	Probabilidade
Fusão de lamelas	A	12(21,05%)	16(28,07%)	$0,13^{ns}$
	P	16(28,07%)	13(22,81%)	
Hiperplasia Interlamelar	A	14(24,56%)	20(35,09%)	$0,07^{ns}$
	P	14(24,56%)	9(15,79%)	
Edema sub-epitelial	A	23(40,35%)	25(43,86%)	$0, 25^{ns}$
	P	5(8,77%)	4(7,02%)	
Telangiectasia	A	20(35,09%)	18(31,58%)	$0,16^{ns}$
	P	8(14,04%)	11(19,30%)	

ns – não significativo

A correlação de lesões branquiais com os tipos de tanque utilizados demonstrou diferença estatística ($p<0,05$) para a fusão de lamelas e hiperplasia interlamelar que ocorreram com maior frequência em viveiros de terra (Tabela 4).

Tabela 4. Ocorrência de alterações em brânquias de peixes relacionadas aos tipos de criatórios no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Alterações Branquiais	Ausência (A) Presença (P)	Viveiro de terra	Tanque rede	Probabilidade
Fusão de lamelas	A	14(24,56%)	14(24,56%)	0,01*
	P	23(40,35%)	6(10,53%)	
Hiperplasia interlamelar	A	25(43,86%)	9(15,79%)	0,005*
	P	12(21,05%)	11(19,30%)	
Edema sub-epitelial	A	33(57,89%)	15(26,32%)	0,11ns
	P	4(7,02%)	5(8,77%)	
Telangiectasia	A	26(45,61%)	12(21,05%)	0,16ns
	P	11(19,30%)	8(14,04%)	

ns- não significativo; * significativo

O epitélio branquial é a principal superfície de contato com o ambiente e importante alvo de poluentes da água, devido a sua extensa superfície e dessa forma ocasionando alterações teciduais.

Essas alterações inespecíficas atuam como mecanismos de defesa do órgão (KARLSSON-NORRGREN et al. 1985, ERKMEN & KOLANKAYA, 2000), como respostas a vários tipos de agentes injuriantes tóxicos e podem comprometer a função da brânquia. MALLAT (1985) assim como WINKALER et al. (2001) e FONTAÍNHAS-FERNANDES et al. (2008) observaram alterações em brânquias expostas a substâncias tóxicas como elevação epitelial, necrose, hipertrofia, hiperplasia, fusão de lamelas, ruptura do tecido branquial, hipersecreção e proliferação de células mucosas. THOPHON et al. (2003) referem-se à presença de edema acompanhado pelo

descolamento do epitélio lamelar como sendo o primeiro sinal grave de alteração branquial.

Nas seis pisciculturas trabalhadas, os viveiros de terra não tinham circulação de água, abrigavam alta densidade de peixes, resultando em altos teores de amônia e de matéria orgânica causando estresse nos peixes. Dessa forma, as alterações como hiperplasia interlamelar e consequente fusão de lamelas, assim como o edema sub-epitelial, embora sejam mecanismos de defesa, provocam o aumento da distância entre as células epiteliais e os capilares sanguíneos com prejuízo das trocas gasosas e distúrbios de osmorregulação, essenciais à sobrevivência.

Em relação a ocorrência de lesões nas diferentes espécies de peixe a análise estatística demonstrou que houve diferença estatística ($p<0,05$), sendo o tambacu mais sensível para fusão de lamelas enquanto que em tilápia as demais lesões foram mais frequentes (Tabela 5).

Tabela 5. Ocorrência de alterações em brânquias relacionadas à espécie de peixes de pisciculturas no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações Branquiais	Ausência (A) Presença (P)	Tambacu	Tilápia	Probabilidade
Fusão de lamelas	A	7(12,28%)	21(36,84%)	0,0041*
	P	18(31,58%)	11(19,30%)	
Hiperplasia interlamelar	A	21(36,84%)	13(22,81%)	0,00082*
	P	4(7,02%)	19(33,33%)	
Edema sub-epitelial	A	24(42,11%)	24(42,11%)	0,0292*
	P	1(1,75%)	8(14,04%)	
Telangiectasia	A	21(36,84%)	17(29,82%)	0,0112*
	P	4(7,02%)	15(26,32%)	

* significativo

Em relação aos pontos de colheita, houve diferença estatística para todas as alterações branquiais (Tabela 6).

Tabela 6. Ocorrência de alterações em brânquias de peixes relacionadas aos pontos de colheita de pisciculturas no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações Branquiais	A P	Pisciculturas A	B	C	D	E	F	P
Fusão de lamelas	A	7 12,28%	7 12,28%	7 12,28%	4 7,02%	0 0,00	3 5,26%	0,000006*
	P	3 5,26%	3 5,26%	5 8,77%	4 7,02%	7 12,28%	7 12,28%	
Hiperplasia interlamelar	A	2 3,51%	7 12,28%	4 7,02%	6 10,53%	7 12,28%	8 14,04%	0,0000006*
	P	8 14,04%	3 5,26%	8 14,04%	2 3,51%	0 0,00%	2 3,51%	
Edema sub-epitelial	A	6 10,53%	9 15,79%	9 15,79%	7 12,28%	7 12,28%	10 17,54%	0,0004*
	P	4 7,02%	1 1,75%	3 5,26%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	
Telangiectasia	A	7 12,28%	5 8,77%	5 8,77%	5 8,77%	6 10,53%	10 17,54%	0,00001*
	P	3 5,26%	5 8,77%	7 12,28%	3 5,26%	1 1,75%	0 0,00%	

*significativo; A - Ausência e P-Presença

A alteração fusão de lamelas teve maior ocorrência nos peixes das pisciculturas E e F, foi intermediária nas C e D e menor nas A e B.

A hiperplasia interlamelar teve maior ocorrência nos peixes das pisciculturas A e C, intermediária na B e foi menor nas D e F e na E esteve ausente.

O edema sub-epitelial apresentou maior ocorrência na piscicultura A, intermediária na C, foi menor nas B e D e foi ausente nas E e F.

A telangiectasia teve maior ocorrência na piscicultura C, intermediária na B, menor nas A, D e E e foi ausente na F.

Levando em consideração a diferença significativa das alterações branquiais entre as espécies e as diferentes pisciculturas, observa-se que tambacu criado em viveiros de terra nas pisciculturas E e F foi mais sensível para fusão de lamelas e tilápias criadas nas pisciculturas A (tanque-rede) e C (viveiro de terra) para hiperplasia interlamelar; na piscicultura A, a lesão predominante foi edema sub-epitelial e na piscicultura C, telangiectasia.

Os tambacus criados em viveiro de terra das pisciculturas D e E desenvolveram hiperplasia interlamelar e consequentemente fusão de lamelas que pode ter ocorrido pelo excesso de material particulado como verificado pela alta turbidez. Já as tilápias criadas em tanque-rede na piscicultura A desenvolveram hiperplasia interlamelar e edema subepitelial e na piscicultura C ocorreu hiperplasia interlamelar e telangiectasia em tilápias criadas em viveiro de terra em decorrência não só do material particulado mas também pelo alto teor de fosfato.

A presença de telangiectasia nas pisciculturas pode ter sido consequência da ruptura das células pilares permitindo a dilatação dos capilares sinusóides das lamelas e pode estar associada a traumas físicos ou químicos. ROBERTS (2001) cita que essa alteração apresenta-se após manejos mais severos e pode estar associada com lesões parasitárias, resíduos metabólicos ou contaminantes químicos e quando muitas lamelas são afetadas a função respiratória pode diminuir especialmente em temperaturas altas, quando os níveis de oxigênio são baixos e a demanda metabólica é alta. Caso os peixes estejam traumatizados pode haver a ruptura das brânquias e morte por hemorragia.

5.4.2 Fígado

No fígado de teleósteos não é possível distinguir subdivisões hexagonais do parênquima (lóbulos hepáticos). As tríades portais, constituídas pela ramificação da veia porta, a artéria hepática e ducto biliar, são indistintos, se não ausentes, em quase todos os teleósteos (Figura 14a). O estudo das alterações teciduais em fígado evidenciou congestão, necrose de hepatócitos, necrose do tecido pancreático, esteatose (Figura 14b), infiltrado inflamatório mononuclear no hepatopâncreas (Figura 14c), hepatócitos contendo bilirrubina (Figura 14d), hialinização, hemorragia e pigmentos.

O fígado principal órgão do metabolismo de substâncias tóxicas, entra em contato direto com poluentes absorvidos do ambiente, sendo os hepatócitos considerados como as principais células alvo dos agentes tóxicos. Estes chegam ao fígado pela corrente sanguínea e exercem seus efeitos nos hepatócitos por maior tempo devido à lentidão do fluxo sanguíneo. Além disso, também o fluxo biliar é cerca de 50 vezes mais lento que o de mamíferos, tornando mais vagarosa a depuração de produtos tóxicos (GINGERICH, 1982).

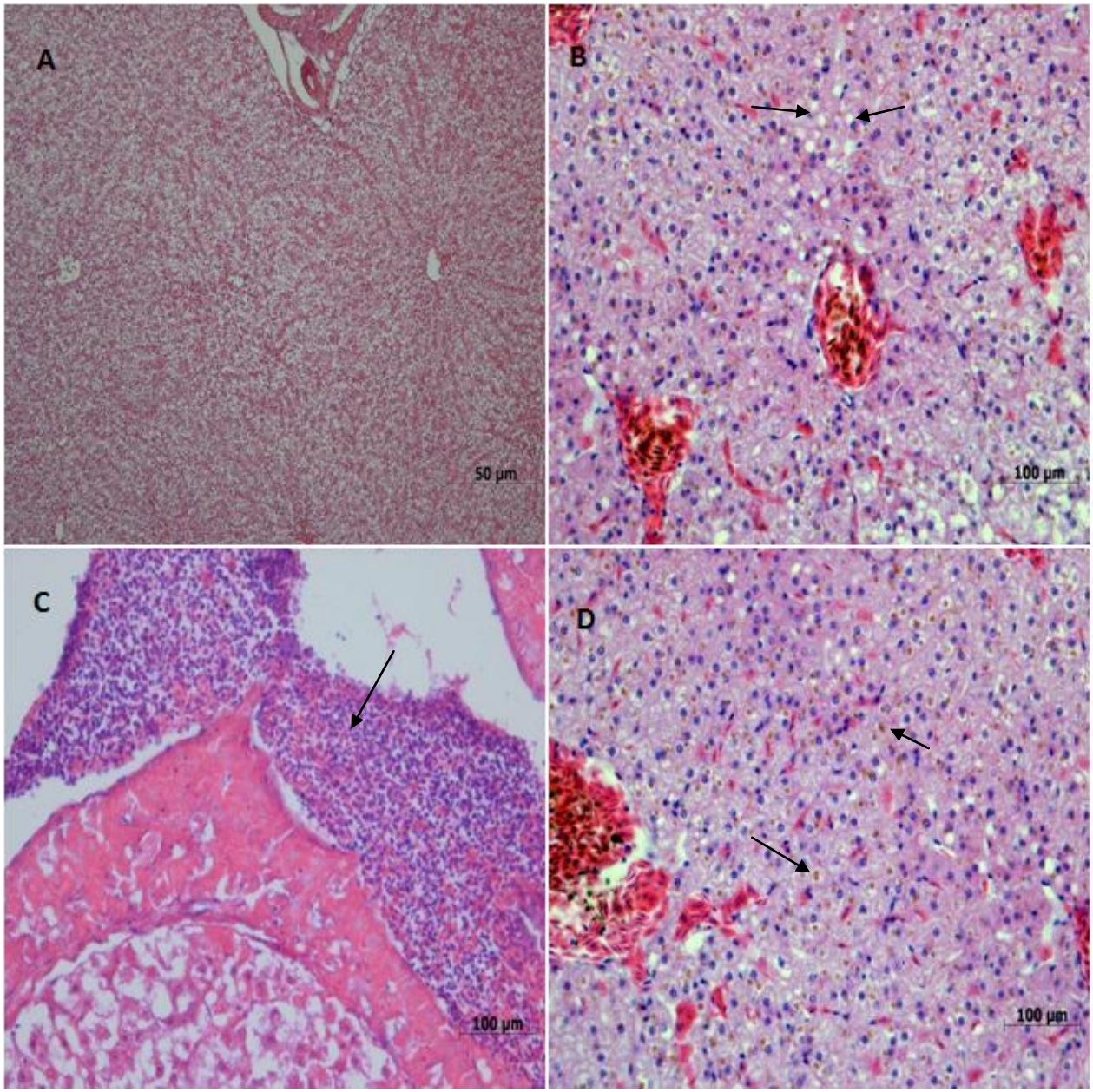

Figura 14. Fotomicrografia mostrando o parênquima hepático de tilápia onde se observa: A - disposição cordonal dos hepatócitos. B - vacúolos citoplasmáticos de limites bem definidos caracterizando esteatose (seta). D - hepatócitos com bilirrubina e áreas com esteatose (seta) e C - Hepatopâncreas de tilápia com visualização de foco de inflamação com predomínio de células mononucleares (setas), HE.

Na comparação entre as alterações estruturais avaliadas em relação aos períodos chuvoso e seco, verificou-se pelo teste Exato de Fisher, ao nível de 5% de probabilidade, que não houve diferença estatística (Tabela 7). As lesões ocorridas nos peixes não dependem da precipitação pluviométrica da região.

Tabela 7. Ocorrência de alterações em fígado de peixes relacionadas aos períodos chuvoso e seco no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações em fígado	Ausência (A) Presença (P)	Chuvoso	Seco	Probabilidade
Congestão	A	24(42,11%)	29(50,88%)	$0,051^{ns}$
	P	4(7,02%)	0(0,00%)	
Necrose	A	26(45,61%)	28(49,12%)	$0,374^{ns}$
	P	2(3,51%)	1(1,75%)	
Necrose Pancreática	A	27(47,37%)	29(50,88%)	$0,491^{ns}$
	P	1(8,77%)	0(0,00%)	
Esteatose	A	24(42,11%)	26(45,61%)	$0,283^{ns}$
	P	4(7,02%)	3(5,26%)	
Inflamação do Hepatopâncreas	A	26(45,61%)	29(50,88%)	$0,236^{ns}$
	P	2(3,51%)	0(0,00%)	
Hepatócitos com bilirrubina	A	21(38,84%)	25(43,86%)	$0,152^{ns}$
	P	7(12,28%)	4(7,02%)	
Hialinização	A	27(47,37%)	29(50,88%)	$0,491^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Hemorragia	A	27(47,37%)	29(50,88%)	$0,491^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Pigmentos	A	23(40,35%)	28(49,12%)	$0,078^{ns}$
	P	5(8,77%)	1(1,75%)	

ns – não significativo

A tabela 8 mostra que houve diferença estatística (p<0,05) entre as amostras de fígado, com maior ocorrência de hepatócitos apresentando bilirrubina intracelular nas amostras colhidas de peixes de viveiro de terra.

Tabela 8. Ocorrência de alterações em fígado de peixes relacionadas aos tipos de criatórios das pisciculturas no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações em fígado	Ausência (A) Presença (P)	Viveiro de terra	Tanque-rede	Probabilidade
Congestão	A	36(63,16%)	17(29,82%)	$0,10^{ns}$
	P	1(1,75%)	3(5,26%)	
Necrose	A	36(63,16%)	18(31,58%)	$0,24^{ns}$
	P	1(1,75%)	2(3,51%)	
Necrose Pancreática	A	37(64,91%)	19(33,33%)	$0,35^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Esteatose	A	32(56,14%)	18(31,58%)	$0,31^{ns}$
	P	5(8,77%)	2(3,51%)	
Inflamação do Hepatopâncreas	A	36(63,16%)	19(33,33%)	$0,46^{ns}$
	P	1(1,75%)	1(1,75%)	
Hepatócitos com bilirrubina	A	27(47,37%)	19(33,33%)	0,03*
	P	10(17,54%)	1(1,75%)	
Hialinização	A	36(63,16%)	20(35,09%)	$0,64^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Hemorragia	A	36(63,16%)	20(35,09%)	$0,64^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Pigmentos	A	33(57,89%)	18(31,58%)	$0,34^{ns}$
	P	4(7,02%)	2(3,51%)	

ns – não significativo ; *significativo

A bilirrubina é um subproduto normal do metabolismo da hemoglobina, mas em certas ocasiões pode ocorrer em excesso. Pode formar-se nas células do retículo-endotelial após a fagocitose e ser transportada ao fígado por meio do plasma por uma proteína carreadora denominada haptoglobina. No hepatócito, a bilirrubina é conjugada com ácido glicurônico e passa para os canalículos para tornar-se integrante da bile (THOMSON, 1983). Não tem função fisiológica conhecida, mas sugere-se que tenha ação antioxidante. Por ser parte integrante da bile pode servir como meio de excreção de xenobióticos entre outras substâncias.

Problemas metabólicos no fígado foram observados no presente estudo, que foi a alteração caracterizada pela permanência de bile na forma de grânulos castanho-amarelado no citoplasma dos hepatócitos de tambacu criados em viveiro de terra, sugerindo uma possível estase biliar. Essa alteração, denominada colestase, é a manifestação de uma condição patofisiológica atribuída à falha do metabolismo ou da excreção de pigmentos biliares. Para que a bilirrubina possa ser excretada, ela deve se solubilizar na água, o que ocorre somente por meio da conjugação com o ácido glucurônico. Então, a redução da capacidade de ligação da bilirrubina a esse ácido pode ser a razão da disfunção hepática (PACHECO & SANTOS, 2002). Este acúmulo de bile ou estase biliar indica possível dano ao metabolismo hepático (FANTA et al. 2003). Este fenômeno também foi observado por SANTOS et al. (2004) em pesquisa com tilápias criadas em tanque-rede na represa de Guarapiranga, SP.

Para as duas espécies representadas na tabela 9, observa-se que houve diferença estatística ($p<0,05$) com maior ocorrência de hepatócitos com bilirrubina em tambacu. A estase biliar nessa espécie indica possível dano ao metabolismo hepático.

Tabela 9. Ocorrência de alterações em fígado de peixes relacionadas à espécie de peixe de pisciculturas no município de Itapecuru Mirim, MA.

Alterações em fígado	Ausência (A) Presença (P)	Tambacu	Tilápia	Probabilidade
Congestão	A	25(43,86%)	28(49,12%)	$0,09^{ns}$
	P	0(0,00%)	4(7,02%)	
Necrose	A	24(42,11%)	30(52,63%)	$0,42^{ns}$
	P	2(3,51%)	1(1,75%)	
Necrose Pancreática	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Esteatose	A	21(36,84%)	29(50,88%)	$0,23^{ns}$
	P	4(7,02%)	3(5,26%)	
Inflamação do Hepatopâncreas	A	24(42,11%)	31(54,39%)	$0,50^{ns}$
	P	1(1,75%)	1(1,75%)	
Hepatócitos com bilirrubina	A	15(26,32%)	31(54,39%)	$0,0005^{*}$
	P	10(17,54%)	1(1,75%)	
Núcleo hialinizado	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Hemorragia	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Pigmentos	A	22(38,60%)	29(50,88%)	$0,31^{ns}$
	P	3(5,26%)	3(5,26%)	

ns – não significativo; *significativo

A tabela 10 mostra que houve diferença estatística (p<0,05) para as alterações hepáticas como congestão, necrose, esteatose e pigmentos em relação aos pontos de colheita.

Tabela 10. Ocorrência de alterações estruturais em fígado de peixes colhidos em pisciculturas de diferentes locais no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações em fígado	A / P	Pisciculturas						P
		A	B	C	D	E	F	
Congestão	A	8 14,04%	9 15,79%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0, 013*
	P	2 3,51%	1 1,75%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Necrose	A	8 14.04%	10 17,54%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	9 15,79%	0,015*
	P	2 3,51%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	
Necrose pancreática	A	10 17,54%	9 15,79%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,17ns
	P	0 0,00%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Esteatose	A	9 15,79%	9 15,79%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	6 10,53%	0,0009*
	P	1 1,75%	1 1,75%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	4 7,02%	
Inflamação do Hepatopâncreas	A	10 17,54%	9 15,79%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	9 15,79%	0,062ns
	P	0 0,00%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	
Hepatócitos com bilirrubina	A	9 15,79%	10 17,54%	12 21,05%	8 14,04%	3 5,26%	4 7,02%	0,05ns
	P	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	4 7,02%	6 10,53%	
Hailinização	A	10 17,54%	10 17,54%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,21ns
	P	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Hemorragia	A	10 17,54%	10 17,54%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,21ns
	P	0 0,00%	0 0,00%	1 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Pigmentos	A	8 14,04%	10 17,54%	11 19,30%	8 14,04%	5 8,77%	9 15,79%	0,003*
	P	2 3,51%	0 0,00%	1 1,75%	0 0,00%	2 3,51%	1 1,75%	

ns-não significativo;*significativo; A-Ausência e P-Presença

O processo de congestão teve maior ocorrência nos peixes da piscicultura A, intermediária nas B e C e foi ausente nas D, E e F.

Congestão sugere que o fluxo sanguíneo que drena uma área é obstruído e, consequentemente, o sangue se acumula na circulação venosa. Pode ser causada por obstrução física de pequenos ou grandes vasos ou pela falha do fluxo normal (THOMSON, 1983).

Os achados deste estudo diferem dos de THOMAS (1990), SILVA (2004), SANTOS et al. (2004), FRANCISCO (2006) que não observaram a presença de congestão hepática, no entanto, se assemelham ao de CAMPOS et al. (2006) que observaram o mesmo processo em peixes silvestres.

A necrose teve maior ocorrência nos peixes da piscicultura A e menor na F e ausentes nas B, C, D e E.

Necrose é a morte de uma célula ou parte de um tecido em um organismo vivo. Neste trabalho, a necrose hepática sugere um possível efeito de poluentes resultantes da atividade agrícola na área vizinha as pisciculturas, lixiviados para o meio aquático e da descarga de esgotos.

A ocorrência de necrose também foi observada por SILVA (2004) e CAMARGO & MARTINEZ (2007) em peixes de ribeirão Cambé poluído por esgotos domésticos e efluentes rurais, FRANCISCO (2006) e CAMPOS et al. (2006) em peixes de locais contaminados por pesticidas agrícolas.

A esteatose ocorreu mais nos peixes oriundos da piscicultura F, foi intermediária nas A, B e C e ausente nas D e E.

A esteatose pode ser consequência de distúrbios metabólicos decorrentes da ação de produtos tóxicos e, em vários processos antecede a necrose (ROBBINS & COTRAN, 2005).

A ocorrência de esteatose também foi observada por FRANCISCO (2006) e CAMPOS et al. (2006) em peixes mantidos em locais contaminados por pesticidas agrícolas, mas diferem dos achados de THOMAS (1990), SILVA (2004), SANTOS et al. (2004) e CAMARGO E MARTINEZ (2007), que mesmo em ambientes poluídos os peixes não desenvolveram esse tipo de lesão.

Outros pigmentos como melanina e hemossiderina ocorreram mais nas pisciculturas A e E, foi intermediária nas C e F e ausente nas B e D.

A melanina pode estar presente em vários distúrbios mórbidos e representa o produto final de uma cadeia enzimática que produz enzimas com atividade microbicida (VETVICKA & SIMA, 2004), enquanto, a hemosiderina resulta do metabolismo da hemoglobina e se deposita nos tecidos como consequência de hemorragia (ROBBINS & COTRAN, 2005).

A piscicultura D apresentou poluição de origem fecal, alta turbidez e elevados índices de fosfato. Nessa piscicultura os peixes eram tambacus que poderiam ser menos susceptíveis aos efeitos desses contaminantes.

As alterações descritas estão relacionadas aos processos de intoxicação sendo a extensão e gravidade da lesão proporcional ao tipo, duração, severidade da agressão e estado fisiológico da célula envolvida (ROBBINS & COTRAN, 2005).

Dessa forma, sugere-se que as lesões encontradas no tecido hepático sejam em decorrência da poluição ambiental da água do rio Itapecuru Mirim ou por outras razões que não foram identificadas.

5.4.3 Rim

A estrutura morfológica do rim dos teleósteos é em geral, caracterizada por apresentar néfrons com corpúsculo renal (glomérulo e cápsula de Bowman) e túbulos renais. O túbulo renal é dividido em duas porções uma proximal e outra distal. Cada estrutura do rim dos teleósteos realiza uma função específica na produção de urina, regulação osmótica e hormonal do animal. Nos teleósteos dulcícolas, os glomérulos, responsáveis pela ultrafiltração do sangue estão mais concentrados na posição posterior do rim, onde ocorre extensa reposição de íons durante o fluxo do filtrado ao longo dos túbulos renais, produzindo filtrado que dará origem à urina (TAKASHIMA & HIBIYA, 1995; JOBLING, 1995).

O rim de teleósteos é um dos primeiros órgãos a ser afetado por contaminantes da água (THOPHON et al. 2003). Os rins constituem a principal via de excreção para os metabólitos de vários xenobióticos aos quais o peixe tenha sido eventualmente exposto (HINTON et al. 1992).

As alterações em rim observadas foram necrose coagulativa (Figura 15a), esteatose, hemorragia intersticial e focal (Figura 15b e c), edema intersticial, inflamação, néfron imaturo (Figura 15d), hialinização, acúmulo de hemossiderina (Figura 16a) e melanomacrófagos (Figura 16b)

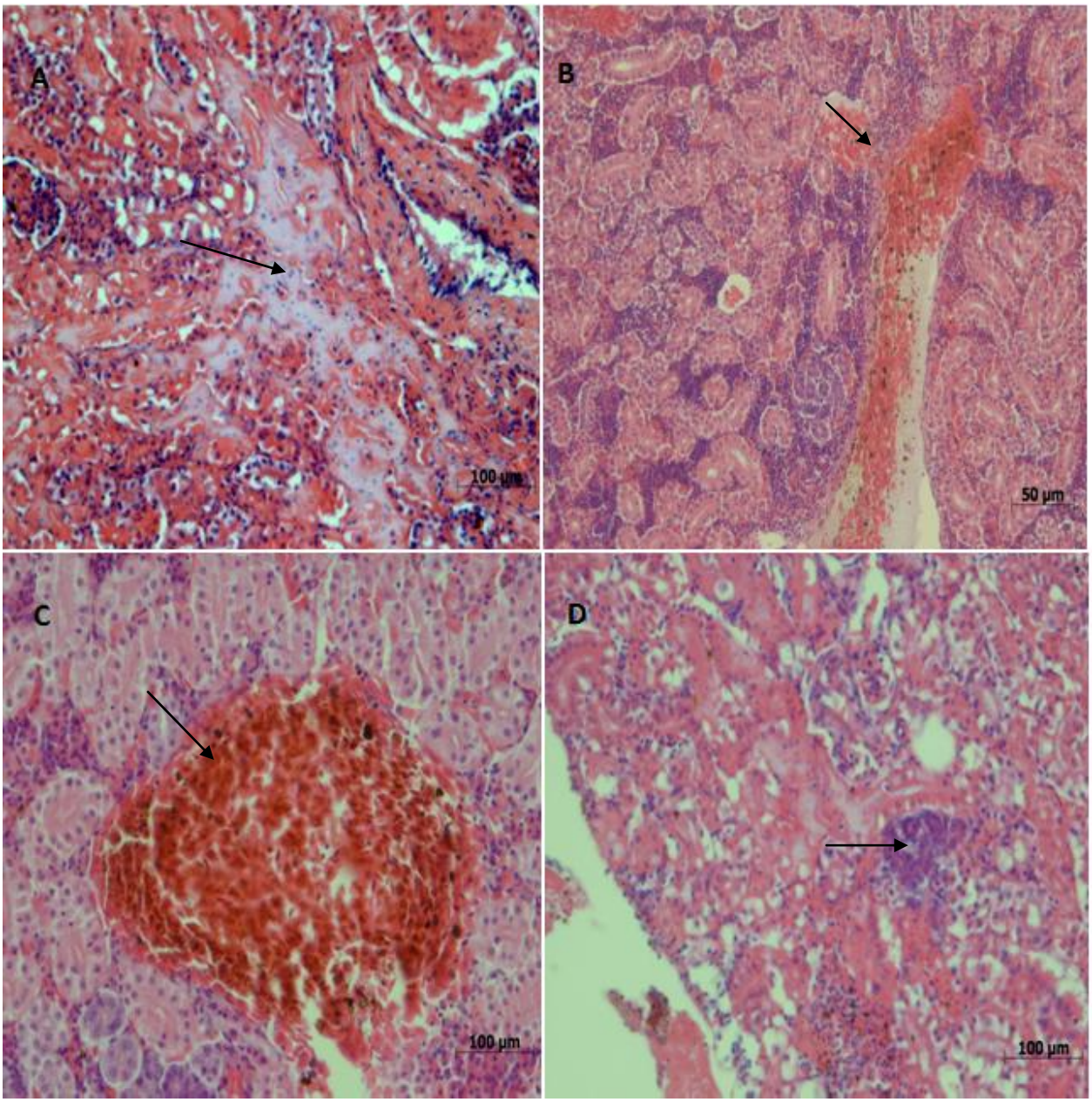

Figura 15. Fotomicrografia de rim de tambacu, onde se observa: A – necrose focal (seta); B **-**hemorragia intersticial (seta); C – hemorragia focal (seta) e D - néfron imaturo (seta) HE.

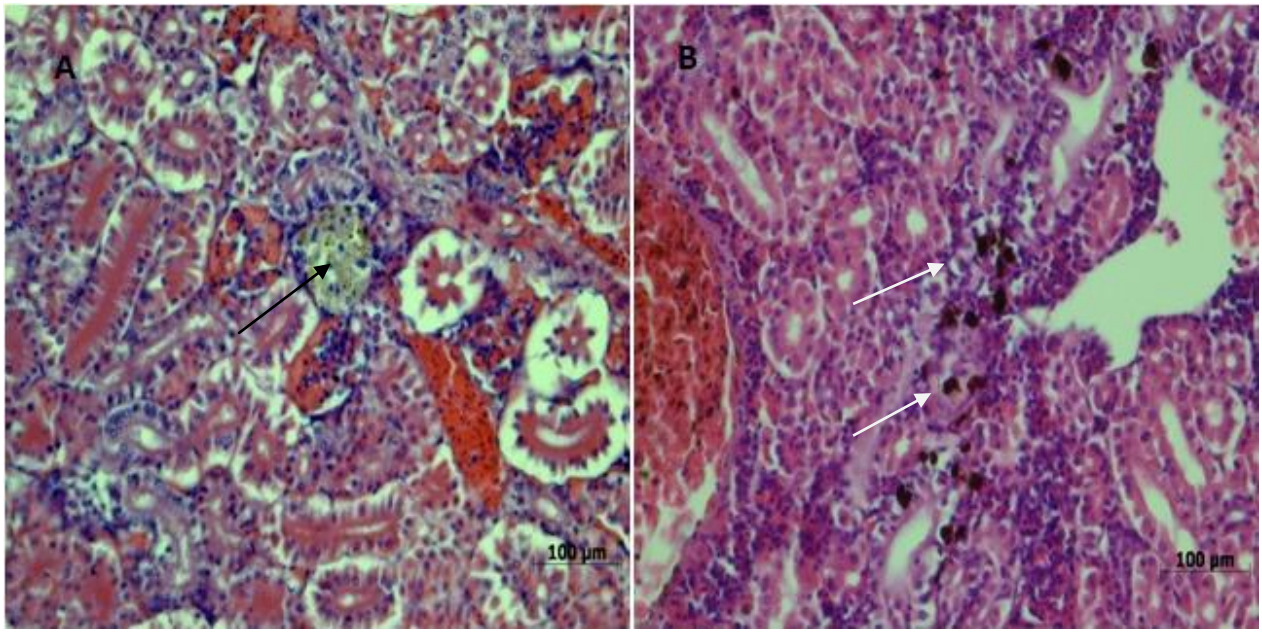

Figura 16. Fotomicrografia de rim de tambacu, onde se nota: A - acúmulo de hemossiderina (seta)me B melano-macrófagos (setas).

O teste Exato de Fisher ao nível de 5% de probabilidade mostrou que em época chuvosa há incidência significativamente maior de hemorragia focal, néfron imaturo e pigmentos em relação ao período seco (Tabela 11). Essas lesões parecem depender do período chuvoso para ocorrer.

Tabela 11. Ocorrência de alterações em rim de peixes relacionadas períodos chuvoso e seco no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações em rim	Ausência (A) Presença (P)	Chuvoso	Seco	Probabilidade
Necrose coagulativa	A	27(47,37%)	29(50,88%)	$0,49^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Esteatose	A	26(45,61%)	29(50,88%)	$0,23^{ns}$
	P	2(3,51%)	0(0,00%)	
Hemorragia focal	A	23(40,35%)	29(50,88%)	0,02*
	P	5(8,77%)	0(0,00%)	
Hemorragia intersticial	A	25(43,86%)	29(50,88%)	$0,11^{ns}$
	P	3(5,26%)	0(0,00%)	
Edema intersticial	A	27(47,37%)	29(50,88%)	$0,49^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Inflamação	A	27(47,37 %)	29(50,88%)	$0,49^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Néfron imaturo	A	21(36,84%)	29(50,88%)	0,0045*
	P	7(12,28%)	0(0,00%)	
Hialinização	A	25(43,86%)	29(50,88%)	$0,11^{ns}$
	P	3(5,26%)	0(0,00%)	
Centro de melanomacrófagos	A	27(47,37%)	29(50,88%)	$0,49^{ns}$
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Pigmentos	A	19(33,33%)	28(49,12%)	$0,0046^{*}$
	P	9(15,79%)	1(1,75%)	

ns – não significativo; * significativo

A tabela 12 mostra que houve diferença estatística ($p<0,05$) com maior ocorrência para hemorragia focal, néfron imaturo e hialinização em peixes oriundos de

tanque-rede. Os tanque-rede no rio Itapecuru Mirim que são sistemas lóticos abrigavam tilápias e observava-se sobras de ração nos tanques consequentemente alterando a qualidade da água.

Tabela 12. Ocorrência de alterações em rim de peixes relacionadas aos tipos de criatórios no município de Itapecuru Mirim, Maranhão

Alterações em rim	Ausência (A) Presença (P)	Viveiro de terra	Tanque-rede	Probabilidade
Necrose coagulativa	A	37(64,91%)	19(33,33%)	0,35^{ns}
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Esteatose	A	36(63,16%)	19(33,33%)	0,46^{ns}
	P	1(1,75%)	1(1,75%)	
Hemorragia focal	A	36(63,16%)	16(28,07%)	0,0428*
	P	1(1,75%)	4(7,02%)	
Hemorragia intersticial	A	36(63,16%)	18(31,58%)	0,24^{ns}
	P	1(1,75%)	2(3,51%)	
Edema intersticial	A	37(64,91%)	19(33,33%)	0,35^{ns}
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Inflamação	A	37(64,91%)	19(33,33%)	0,35^{ns}
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Néfron imaturo	A	35(61,40%)	15(26,32%)	0,039***
	P	2(3,51%)	5(8,77%)	
Hialinização	A	37(64,91%)	17(29,82%)	0,039**
	P	0(0,00%)	3(5,26%)	
Centro de melanomacrófagos	A	36(63,16%)	20(35,09%)	0,64^{ns}
	P	1(1,75%)	0(0,00%)	
Pigmentos	A	28(49,12%)	19(33,33%)	0,05^{ns}
	P	9(15,79%)	1(1,75%)	

ns – não significativo; * significativo

Ao analisar as lesões de rim em relação à espécie de peixe, houve diferença estatística ($p<0,05$), sendo que foi maior a ocorrência para hemorragia focal em tilápia (Tabela 13).

Tabela 13. Ocorrência de alterações em rim de peixes relacionadas à espécie de peixe colhidas em pisciculturas no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações em rim	Ausência (A) Presença (P)	Tambacu	Tilápia	Probabilidade
Necrose coagulativa	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Esteatose	A	24(42,11%)	31(54,39%)	$0,50^{ns}$
	P	1(1,75%)	1(1,75%)	
Hemorragia focal	A	25(43,86%)	27(47,37%)	$0,048^{*}$
	P	0(0,00%)	5(8,77%)	
Hemorragia intersticial	A	24(42,11%)	30(52,63%)	$0,42^{ns}$
	P	1(1,75%)	2(3,51%)	
Edema intersticial	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Inflamação	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Néfron imaturo	A	24(42,11%)	26(45,61%)	$0,08^{ns}$
	P	1(1,75%)	6(10,53%)	
Hialinização	A	25(43,86%)	29(50,88%)	$0,16^{ns}$
	P	0(0,00%)	3(5,26%)	
Centro de melanomacrófagos	A	25(43,86%)	31(54,39%)	$0,56^{ns}$
	P	0(0,00%)	1(1,75%)	
Pigmentos	A	18(31,58%)	29(50,88%)	$0,055^{ns}$
	P	3(5,26%)	7(12,28%)	

ns – não significativo; *significativo

Hemorragias corticais renais ocorrem associadas a muitas doenças septicêmicas e resultam de vasculite ou de necrose vascular (CARLTON & McGAVIN, 1998). Sugere-se que as lesões hemorrágicas que acometeram tilápias mantidas em tanque-rede pode ser resultado da presença de agentes bacterianos, ou exposição prolongada a algum agente estressor. Esses achados são similares aos de SILVA (2004), em peixes do ribeirão Cambé, Londrina, PR poluído por esgotos domésticos e resíduos industriais, CAMPOS et al. (2006), em peixes do rio Aquidauana-MS pela ação de poluentes e parasitos e FRANCISCO (2006), em peixes do Vale do Itajaí-SC mantidos em monocultivo e policultivo que não estavam parasitados apresentaram essa modificação no rim, sugerindo assim que metais pesados e químicos agrícolas podem agir indiretamente e ocasionar lesões. Alem disso a água de policultivo era altamente contaminada ou poluída por dejetos de suínos e consequentemente por coliformes.

Poluentes resultantes de praguicidas agrícolas na água de piscicultura de tanque-rede das localidades poderiam ser a causa da presença de néfrons imaturos que leva ao comprometimento fisiológico. Pode-se encontrar néfrons imaturos em peixes de águas não poluídas, mas o que difere de ambiente impactado é a quantidade dessas estruturas no rim. Neste estudo foi encontrado com maior ocorrência no período chuvoso, em tilápias criadas em tanque-rede. Similares aos observados por SILVA (2004), em peixes coletados no ribeirão Cambé de Londrina, Paraná também poluído e CORMIER et al. (1995) que encontrou novos néfrons em peixes da espécie *Ameiurus nebulosus* coletados em ribeirões contaminados por esgotos domésticos.

A hialinização é caracterizada pela variação do aspecto normal das células para vários graus de uma aparência vítrea, homogênea e eosinofílica. Neste estudo, os peixes oriundos de tanque-rede apresentaram esse tipo de alteração nos túbulos renais e glomérulos em decorrência provavelmente da ação de agentes tóxicos presentes na água com prejuízo na função renal. Este tipo de alteração também foi encontrada em peixes do rio Aquidauana, MS por CAMPOS et al. (2006) e FRANCISCO (2006) em peixes do médio Vale do Itajaí, SC, os pesquisadores citaram que provavelmente essa lesão se deve ao tempo de exposição aos poluentes do meio aquático.

Nos peixes também foi observado a presença de pigmentos como melanina e hemossiderina. A presença de melanina ou lipofucsina livre oriunda da ruptura de melanomacrófagos é observada na infecção por *Aeromonas hydrophila* (ROBERTS,1981). A melanina pode absorver ou neutralizar radicais livres (AGIUS & ROBERTS, 2003), cátions e outros agentes tóxicos, derivados da degradação de material fagocitado (ZUASTI et al. 1998). Os peixes que foram examinados podem ter sofrido a ação de agentes biológicos e químicos que estimulam respostas de centros melanomacrófagos cuja ação resulta em diferentes tipos de lesões, justificando assim sua presença no rim.

A tabela 14 apresenta os dados das alterações em relação aos pontos de colheita, mostrando que houve diferença estatística ($p<0,05$) com maior ocorrência para hemorragia focal nos peixes da piscicultura A, intermediária na B e ausente nas D, E e F.

Hemorragia intersticial ocorreu nos peixes das pisciculturas A, B e F e foi ausente nos peixes das pisciculturas C, D e E.

Néfron imaturo foi maior nos peixes da piscicultura A, intermediária nas B, C e F e ausente nas pisciculturas D e E.

Hialinização ocorreu nos peixes da piscicultura A e B e foi ausente nas C, D , E e F.

Esses achados confirmam os dados contidos nas tabelas 12,13 e 14 com maior ocorrência dessas alterações em peixes das pisciculturas A e B, que se encontra no rio Itapecuru Mirim e cria tilápias em tanque-rede. As alterações encontradas no presente estudo indicam possíveis efeitos de agentes tóxicos presentes na água e no sedimento do rio Itapecuru Mirim, pois no trecho entre os municípios de Colinas e Itapecuru - Mirim, as águas apresentam-se turvas e escuras, com presença de grandes quantidades de sedimentos e poluição por descarga orgânica, esgoto doméstico e poluentes residuais de pequenas indústrias, além de lixo propriamente dito que em parte é descarregado no rio.

Tabela 14. Ocorrência de alterações estruturais em rim de peixes colhidos em pisciculturas de diferentes locais no município de Itapecuru Mirim, MA

Alterações em rim	A P	Pisciculturas A	B	C	D	E	F	P
Necrose coagulativa	A	10 17,54%	9 15,79%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,17^{ns}
	P	0 0,00%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Esteatose	A	9 15,79%	10 17,54%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	9 15,79%	0,06^{ns}
	P	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	
Hemorragia focal	A	7 12,28%	9 15,79%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,003*
	P	3 5,26%	1 1,75%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Hemorragia intersticial	A	9 15,79%	9 15,79%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	9 15,79%	0,03*
	P	1 1,75**%**	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	
Edema intersticial	A	9 15,79%	10 17,54%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,17^{ns}
	P	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Inflamação	A	10 17,54%	9 15,79%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,17^{ns}
	P	0 0,005	1 1,75%	0 0,00	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Néfron imaturo	A	7 12,28%	8 14,04%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	9 15,79%	0,002*
	P	3 5,26%	2 3,51%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	
Hialinização	A	8 14,04%	9 15,79%	12 21,05%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,01*
	P	2 3,51%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00	0 0,00%	0 0,00%	
Centro de melanomacrófagos	A	10 17,54%	10 17,54%	11 19,30%	8 14,04%	7 12,28%	10 17,54%	0,05^{ns}
	P	0 0,00%	0 0,00%	1 1,75%	0 0,00%	0 0,00%	0 0,00%	
Pigmentos	A	10 17,54%	9 15,79%	10 17,54%	8 14,04%	3 5,26%	7 12,28%	0,21^{ns}
	P	0 0,00%	1 1,75%	2 3,51%	0 0,00%	4 7,02%	3 5,26%	

ns-não significativo ; *significativo

De modo geral as lesões encontradas nos diferentes tecidos podem ser consequência de interferências decorrentes da atividade humana no ambiente aquático e nas suas vizinhanças. A poluição química ou biológica pode gerar alterações teciduais por ação direta ou indireta, assim como causar estresse nos peixes aumentando a susceptibilidade para infecções. Contribuindo de modo significante para limitar a atividade na criação de peixes.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- os parâmetros físico-químicos e microbiológicos inadequados indicam a necessidade do monitoramento da qualidade da água nas pisciculturas da região;
- o exame microbiológico demonstrou que nas brânquias houve maior ocorrência de cocos Gram positivos;
- as alterações branquiais, hepáticas e renais ocorreram tanto em peixes oriundos dos viveiros de terra quanto tanque-rede e a má qualidade da água assim como o manejo alimentar podem ter interferido para o aparecimento das alterações patológicas.

7. REFERÊNCIAS

ADAMS, S. M. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. **American Fisheries Society Symposium**, Bethesda, v. 8, p. 1-8, 1990.

AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of Fish Disease**, v. 26, p. 499-509, 2003.

ALBANEZ, J. R.; MATOS, A. T. Aquicultura. In: MACÊDO, J. A . B. **Águas e águas**. Belo Horizonte: CRQ, 2007, p. 1100-1106.

ALCÂNTARA, E. H. Caracterização da Bacia Hidrográfica do Rio Itapecuru, Maranhão-Brasil. **Caminhos de Geografia**, v. 7, n. 11, p. 97-113, 2004.

ALMEIDA, S. A. B. et al. Qualidade sanitária das águas de Rio Uma, São Paulo, Brasil, no período das chuvas. **Revista Biociências**, v.14, n. 1, p. 82-86, 2008.

APHA. American Public Health Association **Standard methods for examination of water and wasterwater**.19 th . ed. Washington, 1995.

_____. **Standard methods for examination of water and wasterwater**. 21 th . ed Washington, 2005.

ARANHA, F. J. **Caracterização sócio-econômica e ambiental da bacia do rio Itapecuru no pico da serra, Maranhão**: Relatório técnico. São Luís, Instituto do Homem, 1992.

ARAÚJO, E. J. et al. Efeito de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogenético de *Poecilia vivípara* (Cyprinodontiformes, Poecilidae) . **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 391-399, 2001.

ARELLANO, J. M.; STORCH, V.; SARASQUETE, C. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Duluth, v. 44, p. 62-72, 1999.

ARIAS, C. R et al. Genetic fringerprinting of *Flavobacterium columnare* isolates from cultured fish. **Journal Applied Microbiology**, v. 97, p. 421-428, 2004.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. Fish pathogens diseases in farmed and wild. Chichester, UK: Ellis Horwood, 1987. p. 196-224.

BARJA, J. L.; ESTEVES, A.T. **Patologia en acuicultura**. Espanha: Caicyt, 1988. 550 p.

BARROSO, H. G.; SOUSA, A. P. Áreas potenciais para a aqüicultura sustentável na bacia do rio Itapecuru: Bases para o planejamento com o uso do sistema de informação geográfica. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 2, n. 1, p. 80-102, 2007.

BASTOS, R. K. X. **Utilização de esgotos tratados com fertirrigação, hidroponia e piscicultura**. Rio de Janeiro: PROSAB, 2003, 267p.

BERNET, D.H et al. Histopatology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, p. 25-34, 1999.

BEZERRA, A. S. Contribuição à geomorfologia da bacia do Itapecuru, Maranhão. Dissertação de Mestrado, Unesp. Rio Claro, SP, 1984.

BRASIL. Lei, decretos, etc. Portaria n°101 de 16 de agosto de 1993. Aprova os métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes métodos microbiológicos - Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal. *Diário Oficial* , N.156, p. 11937, 1993, Seção 1.

_____. Agência Nacional de Águas. A **evolução da gestão dos recursos hídricos no Brasil. Brasília**, Edição comemorativa do dia Mundial da Água.Brasília, 2002.64 p.

_____. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA (2005). Resolução n° 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. Disponível em:< http://www.mma.gov.br/port/conama/> Acesso em: 15 jan.2009.

BRAUNBECK, J. B.; STORCH, V.; BRESCH, H. Species-specific reaction of liver ultrastructure in zebrafish (Brachydanio rerio) and trout (Salmo gairdneri) after prolonged exposure to 4-chloroamine. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.19, p.405-418, 1990.

BUNCH, E. C.; BEJERANO, I. The effect of environmental factors on the susceptibility of hibrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* to streptococcosis. **The Israeli Journal of Aquaculture,** v. 49, n. 2, p. 67-76, 1997.

BUCKE, D.; FEIST, S. W. Histological changes in the livers of dab. *Limanda* Limanda (L). **Journal of Fish Diseases**, v.16, p. 281-296, 1993.

CAMARGO, M. M. P.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 5, n. 3, p. 327-336, 2007.

CAMPOS, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F.R. Histopatologia de fígado, rim e baço de *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* e *Pseudoplatystoma fasciatum* parasitados por myxosporídios, capturados no Rio Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 200-2005, 2008.

CARLTON, W. W., McGavin, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 1998, 672p.

CARDOSO, T. P. et al. Concentração de mercúrio e análise histopatológica em músculo, rim e cérebro de peixe-espada (*Trichiurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 540-546, 2009.

CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992, 189p.

CORMIER, S. M. et al. New nephron development in fish from polluted waters: a possible biomarker, **Ecotoxicology**, v.4, p. 157-168, 1995.

ERKMEN, B.; KOLANKAYA, D. Effects of water quality on epithelial morphology in the gill of *Capoeta tinca* living in two tributaries of Kizilirmak River, Turkey, **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, v. 64, p. 418-425, 2000.

FANTA, E. et al. Histopathology of the fish Corydoras paleatus contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 119-130, 2003.

FIGUEIREDO-FERNANDES, A. et al. Histopathological changes in liver and Gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 3, p.103-109, 2007.

FLORES-LOPES, F.; MALABARBA, L. R. Alterações histopatológicas observadas no fígado do lambari *Astyanax jacuhiensis* (COPE, 1894) (TELEOSTEI, CHARACIDAE) sob influência de efluentes petroquímico**s. Biociências**, v. 15, n.2, p. 166-172, 2007.

FONTAÍNHAS-FERNANDES, A. et al. Gill histopathological alterations in Nile tilapia, Orechromis niloticus exposed to treated sewage water. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 5, p. 1057-1063, 2008.

FRANCISCO, C. J. **Fauna parasitária e alterações teciduais em peixes oriundos de pisciculturas com mono ou policultivo do médio vale do Itajaí, SC**. 49f. 2006. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2006.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food microbiology.** New York:Mc Graw- Hill, 1988. 681p.

FRERICHS, G. N. Bacterial diseases of marine fish. **Veterinary Record,** London. v. 125, p. 315-318, 1989.

FUJIMOTO, R. Y.; CRUZ, C.; MORAES, F. R. Análise de efluente e histologia da pele, fígado e rim de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com cromo trivalente. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 34, n. 1, p. 117-124, 2008.

GARCIA-SANTOS, S.; MONTEIRO, S. M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** Belo Horizonte, v. 59, n. 2, p. 376-381, 2007.

GINGERICH, W. H. **Hepatic toxicology of fishes**. In: Aquatic toxicology, ed. L. F. Weber, New York: Plenum Press. p. 55-105, 1982

HAYES, P. R. **Microbiologia e higiene de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 369 p.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology:** normal and pathological features. New York: Kodansha Tokio, 1982. 147p.

HINTON, D.E.; LAURÉN, D. J. Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. **American Fisheries Society Symposium**, Bethesda, v. 8, p. 51-66, 1990.

HUSS, H. H. El pescado fresco: su calidad y câmbios de calidad. Roma: FAO, 1988. 132 p.

JIRAUNGKOORSKUL, W. et al. Histopathological effects of Roundup, a glyphosate herbicide, on nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), **Sciencia Asia**, v. 28, n. 2, p. 121-127, 2002.

KARJALAINEM, H.; SEPPALA, S.;WALLS, M. Nitrogen, phosphorus and Daphnia grazing in controlling phyplankton biomass and composition: an experimental study. **Hydrobiologia**, v. 363, p. 309-321, 1998.

KARLSSON-NORRGREN, L. et al. Cadmium-induced changes in gill morphology of zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-uchanan) and rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal Fisheries Biology**, v. 27, p. 81-95, 1985

KOZINSKA, A. Dominant pathogenic species of mesophilic aeromonads isolated from diseased and healthy fish cultured in Poland. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 30, p. 293-301, 2007.

LANGER, S. L.; VARGAS, V. M. F.; FLORES-LOPES, F. **Alterações histopatológicas na epiderme de *Mugil platanus* (Mugilidae) como resultado da ação de bactérias encontradas no Rio Tramandaí-Tramandaí-RS.** 2007. Disponível em: <http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Artigo-Histologia.pdf.>. Acesso em: 10 de mar 2009.

LIMA, E. B. N. R. **Modelagem integrada para gestão da água na bacia Cuiabá**. 2001. 186p. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos) – Programa de Engenharia Civil-COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro. 2001.

LORENZON, C. S. **Perfil microbiológico de peixes de água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo**. 2009. 52p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)- Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2009.

LUNA, L. G. **Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3. ed. New York : McGraw Hill, 1968. 258 p.

LUPI, C. Avaliação da poluição ambiental através das alterações morfológicas nas brânquias de *Oreochromis niloticus* (tilapia) nos córregos Retiro, Consulta e Bebedouro, município de Bebedouro-SP. **Revista Hispeci & Lema**, v. 9 , n. 3, p. 30.36, 2006.

LUVIZOTTO, M. F. **Efeito de diferentes salinidades sobre as células de cloreto e as células secretoras do epitélio branquial do peixe antártico *Nototheniops nudifons* (Lonnberg,1905)**. 1994. 72 folhas. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Setor de Ciências Biológicas,Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.

MACHADO, P. J. O et al. Qualidade das águas do Rio Paraibuna no trecho urbano de Juiz de Fora/MG. Disponível em: <http://www.virtu.ufjf.br/artigo%201a5.pdf>. Acesso em: 30 de jul. 2009.

MALINS, D. C. The use of environmental assays for impact assessment. **Hydrobiologia**, v. 188/189, p. 87-91, 1989.

MALLATT, J. Fish Gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. **Canadian of Journal Fisheries Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 42, p. 630-648, 1985.

MATTHIESSEN, P et al. Attemps to assess the environmental hazard posed by complex mixtures of organic chemicals in UK estuaries. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 90-95, 1993.

MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Tec Art, 2004, p. 333-386.

MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. In: TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa, 2009. p. 625-723.

NEDOLUHA, P. C.; WESTHOFF, A. Microbiological flora of aquacultured hybrid striped bass. **Journal of Food Protection**, v.56, p. 1054-1060, 1993

NICKELSON II, R., MCCARTHY,S., FINNE, G. Fish, crustaceans and precooked seafoods. In**: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods.** 4. ed, APHA, 2001, p. 497-505.

NOGA, E. J. Fish Disease: diagnosis and treatment. St Louis: Mosby-Year Book, 1996. 367 p.

NOGUEIRA, D. J.; CASTRO, S. C; SÁ, O. R. Avaliação da qualidade da água no reservatório UHE Furnas-MG, utilizando as brânquias de *Pimelodus maculatus* (LACÉPEDE, 1803) como biomarcador de poluição ambiental**, Ciência et Praxis**, v.1, n.1, 2008.

OGUNDIRAN, M. A. et al. Pathologic lesions in the gills of *Clarias gariepinus* exposed to sublethal concentrations of soap and detergent effluents. **Journal of Cell and Animal Biology**, New York, v. 3, n. 5, p. 78-82, 2009.

OLIVEIRA, A. M. B. V. S. Qualidade da água na produção de peixes. Disponível em: <http://www.pisciculturapaulista.com.br/pdf/qualidade_agua.pdf.>Acesso em: 10 jul. 2009.

PACHECO, M.; SANTOS, M. A. Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla Anguilla* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 331-347, 2002.

PÁDUA, H. B. Informações sobre os coliformes totais/fecais e alguns outros organismos indicadores em sistemas aquáticos. 20p. 2003. Disponível em: <http.www.serrano.neves.norm.br/lsm/aqüicultura/aqüicultura_00htm>. Acesso em: 30 de jan. 2009.

PAIXÃO-FILHO, J. M. P. **Piscicultura em água doce: situação atual e perspectivas do crescimento futuro**. 2003, 91f. Dissertação (Mestrado em Economia)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2003.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M**. Doenças de Peixes: Profilaxia, diagnóstico e tratamento.** 3. ed. Maringá: EDUEM, 2008. 311p.

PAWERT, M.; MÜLLER, E.; TRIEBSKORN, R. Ultrastructural changes in fish gills as biomarker to assess small stream pollution, **Tissue & Cell**, v. 30, p. 617-626, 1998.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia:** conceito e aplicações, 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

PERERA, R. P.; JOHNSON, S. K.; LEWIS, D. H. Epizootiological aspects of *Streptococcus iniae* affecting tilapia in Texas. **Aquaculture**, Amsterdam v. 152, p. 25-33, 1997.

PERRY, S. F.; LAURENT, P. Environmental effects on fish gill structure and function. In: RANKIN, J. C.; JENSEN, F. B. **Fish Ecophysiology**, 231-264, 1993.

PILARSKI, F.; ROSSINI, A. J.; CECCARELLI, P. S. Isolation and characterization of *Flavobacterium* columnare (Bernardet et al. 2002) from four tropical fish species in Brazil. **Brazilian Journal Biological**, v. 68, n, 2, p. 404-414, 2008.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 14. ed. Nobel: São Paulo, 2000, 477p.

RABITTO, I. S et al. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histological and biochemical findings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Duluth, p. 1-10, 2006.

ROBERTS, R.J. **Fish pathology**. London: W.B. Saunders, 2001. 472 p.

ROBERTS, R. J.; BULLOCK, A. M. The skin surface ecosystem of teleost fishes. **Proceedings of the Royal Society and Edinburgh Biology,** Edinburgh, v. 79b, p. 87-91, 1980.

ROBBINS, S., COTRAN, R. S. **Patologia-Bases patológicas das doenças**. In: Kumar, V., Abbas, A. K, Fausto, N. (Eds) Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p.1592

SALEH, M. A. Identification and quantitative determination of chlorinated pesticides. **Journal Environmental Science Health**, v.17, n.1, p. 35-42, 1982.

SALVADOR, R. et al. Isolation and characterization of Streptococcus spp. Group B in Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1374-1378, 2005.

SANTOS, A. A. et al. Análise histopatológica de fígado de tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, criada em tanque-rede na represa de Guarapiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 30, n. 2, p. 141-145, 2004.

SANTOS, A. S. **Análise histológica e ultraestrutural do tecido hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratadas com ração contendo diferentes níveis de cobre.** 2003. 58 folhas. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

SCHALCH, S. H. C.; MORAES, F. R.; MORAES,J. R. E. Efeitos do parasitismo sobre a estrutura branquial de *Leporinus macrocephalus* garavello e britsk, 1988 (Anastomidae) e Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887 (Osteichthyes:characidae), **Revista Brasileira de Parasitologia**, v. 15, n. 3, p. 110-115, 2006.

SCHWAIGER, J. et al. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 6, p. 75-86, 1997.

SERAFIM, A.C et al. **Chorume, impactos ambientais e possibilidades de tratamentos. III Fórum de estudos contábeis (área ambiental)**, Rio Claro, 2003.

SHAMA, S. et al. Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 293-298, 2000.

SHOEMAKER, C. A.; EVANS, J. J.; KLESIUS, P. H. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochomis niloticus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 188, n. 3-4, p. 229-235, 2000.

SILVA, A. G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores de contaminação aquática**. 2004. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997, p. 7-10.

SILVA, S. A.; OLIVEIRA, R. **Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias**. Campina Grande, 2001, 254p.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BARROS, A. F.; BRAGA, F. M de S. Effect of floating macrophyte cover on the water quality in fishpond. **Acta Scientiarum: Biological Science**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 101-106, 2003b.

SOUSA, J. A.; SILVA-SOUZA. Bacterial community associated with fish and water from Congonhas River, Sertaneja, Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 44, n. 4, p. 373-381, 2001.

STENTIFORD, G. D. et al. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants, **Marine Environmental Research**, Oxford, v. 55, p. 137-159, 2003.

STRAUSS, M. Health aspects of nightsoil and sludge in agriculture and aquaculture. Part II. Pathogen Survival. **International Reference Center of Waste Disposal** (IRCWD), n. 4/85, Duebendorf, 87p., 1985.

SURESH, A. V. Tilapia Update 1998. **World Aquaculture**, v. 30, n. 4, p. 8-68. 1998.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology normal and pathological features.** 2. ed. Tokyo: Kodanska, 1995.

TEH, S. J.; ADAMS, S. M.; HINTON, D. E. Histopathological biomarkers in feral freshwater fish water fish populations exposed to different types of contaminant stress. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 37, p. 51-70, 1997.

THOMAS, P. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their otential use in environmental monitoring. **American Fisheries Society Symposium**, Bethesda, v. 8, p. 9-28, 1990.

THOMSOM, R. G. **Patologia geral veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983, 412p.

THOPHON, S. M et al. Histopathological alterations of white seabass, Lates calcarifer in acute and subchronic cadmium exposure. **Environmental Pollution**, Barking, v. 121, p. 307-320, 2003.

THUNE, R. L.; STANLEY, L. A.; COOPER, R. K. Pathogenesis of gram-negative bacterial infections in warm water fish. **Annual Reviews of Fish Diseases**, v. 3, p. 37-68, 1993.

VETVICKA, V.; SIMA, P. β-Glucan in invertebrates. **Invertebrate Survival Journal**, Modena, v.1, n. 1, p. 60-65, 2004.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1996, 243p.

WALTERS, G. R; PLUMB, J. A. Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. **Journal of Fish Biology**, London, v. 17, p. 177-185, 1980.

WESTER, P. W.; CANTON, J.H.; The usefulness of histopathology in aquatic toxicity studies. **Comparative Biochemistry and Physiology (C)**, Oxford, v. 100, p. 115-117, 1991.

WINKALER, E. U et al. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 507-514, 2001.

ZELIKOFF, J.T. Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? **Toxicology**, Limerick, v. 129, n. 1, p. 63-71, 1998.

ZLOTKIN, A.; HERSHKO, H.; ELDAR, A. Possible transmission of *Streptococcus iniae* from wild fish to cultured marine fish. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, p. 4065–4067, 1998.

ZUASTI, A. et al. The melanogenic system of *Xenopus laevis*. **Archives Fur Histologie and Cytologie**, v. 61, p. 305-316, 1998.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo